

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА**

**Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології**

**БІОХІМІЧНИЙ МОНІТОРИНГ РОЗВИТКУ СИСТЕМНОЇ
ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ ПІД ЧАС ПЕРЕБІГУ КОРОНАВІРУСНОЇ
ХВОРОБИ У ВАГІТНИХ**

**Кваліфікаційна робота Рівень вищої освіти – другий
(магістерський)**

Виконала: студентка VI курсу, групи 611-М
спеціальності 091 біологія
(освітня програма «біохімія та
лабораторна діагностика»)

Тетяна ТОМАС

Керівник: д.б.н., професор Галина КОПИЛЬЧУК
к.б.н. Іванна НИКОЛАЙЧУК

*До захисту допущено на засіданні кафедри
протокол № _____ від _____ 2022 р.
Зав. кафедрою _____ проф. Копильчук Г.П.*

Чернівці – 2022

Анотація

Магістерська робота присвячена дослідженню аналізу клініко-лабораторних та біохімічних показників розвитку системної запальної реакції у вагітних за умов перебігу коронавірусної хвороби.

Показано, що у вагітних перебіг коронавірусної хвороби супроводжується еритроцитопенією та зниженням концентрації гемоглобіну з розвитком середньої форми анемії за умов прогресування захворювання. У загальному аналізі крові нетиповою ознакою коронавірусної інфекції виступає лейкопенія та лімфоцитопенія.

Підвищення концентрації інтерлейкіну-6 (до 15 пг/мл) на тлі збільшенні рівня С-реактивного протеїну (до 40 мг/л) у вагітних із полісегментною пневмонією на тлі перебігу коронавірусної інфекції можна розглядати як комплексний діагностичний біомаркер ступеня тяжкості запалення та критерій оперативного родорозрішення чи передчасних пологів.

Підвищення лактатдегідрогеназної активності за умов COVID-19 засвідчує виникнення внутрішньоклітинної гіпоксії на тлі зниження рівня сатурації та може використовуватися для оцінки важкості та прогресування захворювання.

Вагітні жінки з COVID-19 мали абсолютне підвищення ризику госпіталізації до відділення інтенсивної терапії, передчасних пологів, кесаревого розтину та госпіталізації своїх новонароджених до неонатального відділення порівняно з вагітними жінками без COVID-19.

Ключові слова: гемоглобін, еритроцитопенія, лейкопенія, лімфоцитопенія, С-реактивний білок, інтерлейкін-6, лактатдегідрогеназа, COVID-19 **Annotation**

The master's thesis is devoted to the study of the analysis of clinical, laboratory and biochemical indicators of the development of the systemic

inflammatory reaction in pregnant women under the conditions of the course of the coronavirus infection.

It is shown that the development of pneumonia against the background of coronavirus infection in pregnant women is accompanied by a decrease in the number of erythrocytes (erythrocytopenia) and a decrease in the hemoglobin content with the development of a moderate form of anemia under conditions of disease progression. An atypical sign of coronavirus pneumonia in a general blood test is a decrease in the number of leukocytes (leukopenia) and lymphocytes (lymphocytopenia).

An increase in the concentration of interleukin-6 (up to 15 pg/ml) with an increase in the level of C-reactive protein (up to 40 mg/l) in pregnant women with polysegmental pneumonia against the background of the course of a coronavirus infection can be considered as a complex diagnostic biomarker of the severity of inflammation and a criterion for operative delivery or premature births. An increase in lactate dehydrogenase activity during the development of viral pneumonia during COVID-19 indicates the development of intracellular hypoxia against the background of a decrease in the level of saturation and can be used to assess the severity and progression of the disease.

Key words: hemoglobin, erythrocytopenia, leukopenia, lymphocytopenia, IL-6, Creactive protein, lactate dehydrogenase, COVID-19

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Т.В. Томас

(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ І. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Основні механізми впливу COVID-19 на перебіг вагітності	7
1.2. Взаємодія вірусних білків SARS-CoV-2 та плаценти	12
1.3. Клінічні прояви коронавірусної інфекції у вагітних.....	15
1.4. Лабораторна діагностика COVID-19.....	20
РОЗДІЛ ІІ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	23
2.1. Об'єкти та методи досліджень.....	23
2.2. Методи проведення тесту на SARS-CoV-2.....	24
2.3. Загальний клінічний аналіз крові.....	25
2.4. Біохімічний аналіз крові.....	26
2.5. Визначення вмісту С-реактивного білка.....	26
2.6. Визначення рівня інтерлейкіну-6.....	27
2.7. Статистичні методи.....	27
РОЗДІЛ ІІІ. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	28
ВИСНОВКИ.....	45
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	46
ДОДАТКИ.....	53

ВСТУП

Вірусні інфекції під час вагітності тривалий час вважалися захворюваннями з відносно сприятливими наслідками. Винятками слугували лише герпесвіруси, серед яких доведено шкідливу дію на ембріон і плід проявляли віруси простого герпесу, вітряної віспи та цитомегаловірус [1].

Фізіологічні зміни в імунній, серцево-судинній та дихальній системах під час вагітності дозволяють зробити припущення про те, що вагітні жінки

особливо вразливі до впливу патогенних інфекційних агентів, що, в свою чергу, може призвести до розвитку захворюваності та смертності матері й плоду. Це перш за все стосується підвищеної частоти ембріональних та плодових репродуктивних втрат, передчасних пологів, високих рівнів перинатальної захворюваності [2]. Окрім того, під час вагітності підвищується схильність до розвитку гіпертензії та гестаційного цукрового діабету, які є визнаними факторами ризику розвитку тяжкого гострого респіраторного синдрому, викликаного коронавірусами, у тому числі і SARS-CoV-2 [3].

Таким чином, коли на початку 2020 року світ увійшов у пандемію SARS-CoV-2, клініцисти та науковці, знали, що вагітні, ймовірно, будуть у групі підвищеного ризику. Спочатку карантинні заходи та тенденція до уникнення ризику маскували деякі підвищені ризики, пов'язані з інфекцією SARSCoV-2 під час вагітності, але з плином часу ризики стали більш очевидними. Інфекція SARS-CoV-2 викликає гарячку, кашель, задишку, міалгії, фарингіт, діарею, пневмонію, гострий респіраторний дистрес-синдром, мультисистемну органну недостатність, цитокіновий шторм, пошкодження ендотелію та тромботичні події [4].

Загалом у вагітних клінічні характеристики COVID-19 подібні до загальної популяції, але вони можуть бути більш безсимптомними. Сотні статей, опублікованих у період 2020-2022 рр. повідомляють про зв'язок коронавірусу з вагітністю та вплив на неї та намагаються визначити несприятливі неонатальні наслідки після інфікування. Встановлено передачу SARS-CoV-2 від матері до дитини, а ВОЗ визнала вірус частиною сімейства інфекцій TORCH (токсоплазмоз, інші віруси, краснуха, цитомегаловірус і простий герпес) [5, 6].

Основними патогенними для людини коронавірусами є SARS-CoV-1, MERS-CoV і SARS-CoV-2. Горизонтальна передача SARS-CoV-2 відбувається

через аерозольні краплі або контакт із зараженими поверхнями, що потенційно може призвести до коронавірусної хвороби (COVID-19). Адаптація дихальної та імунної систем під час вагітності підвищує ризик захворіти на пневмонію [7]. Щоб захистити плід від імунних реакцій матері, необхідні зміни в імунній системі, які включають зменшення кількості та активності Т-клітин (як CD4+, так і CD8+) і природних клітин-кілерів, а також зниження проліферації Тклітин [8]. Водночас вважають, що гормональні зміни, пов'язані з вагітністю, також послаблюють клітинний імунітет [2, 9].

Серцево-легеневі зміни, зокрема, збільшення частоти серцевих скорочень, ударного об'єму, а також зниження залишкової ємності також можуть відігравати важливу роль у вразливості вагітних жінок до респіраторних інфекцій. Зниження функціональної залишкової ємності виникає внаслідок анатомічних змін у діафрагмі та грудній клітці, стимуляції центрального дихального центру через гормональні зміни шляхом збільшення кортикостероїдів, спрямованих на посилення вентиляції, які можуть спричинити гіпоксію та зниження дихальної ємності при гострому ураженні легенів, зокрема, пневмонії [10].

COVID-19 асоціюється із високою частотою тромбоемболічних ускладнень. Це пов'язано з активацією шляхів згортання крові та прогресуванням дисемінованої судинної коагулопатії (ДВС-синдром) та фібринолізу з подальшою динамічною гіперкоагуляцією, що виникає поряд з тромбоцитопенією [4, 8].

Мета роботи – проаналізувати клініко-лабораторні та біохімічні показники розвитку системної запальної реакції за умов коронавірусної інфекції у вагітних.

РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Основні механізми впливу COVID-19 на перебіг вагітності

3 грудня 2019 року гострий респіраторний синдром коронавірусу 2 (SARS-CoV-2) супроводжувався інфікування понад 12 мільйонів людей та спричинив близько 550 000 смертей по всьому світу. Захворюваність і смертність частково виникають через запальну реакцію організму. Незважаючи на швидкі глобальні дослідження, вплив SARS-CoV-2 на плід, що розвивається, залишається незрозумілим. Клінічні звіти про випадки вказують на те, що вертикальна передача нечаста; однак є докази того, що можливе інфікування плаценти та плода. Плаценти інфікованих вагітних жінок демонструють запальні, тромботичні та судинні зміни, які були виявлені при інших запальних станах. Це свідчить про те, що запальна природа інфекції SARS-CoV-2 під час вагітності може спричинити несприятливі акушерські та неонатальні події [11].

Летальність серед усього населення оцінюється в 2,3%. Нещодавні спостереження показують, що інфікування в більшості вагітних жінок протікають безсимптомно або мають легку форму захворювання на основі критеріїв, запропонованих Wu et al. [12]. Тим не менш, будь-яка інфекція під час вагітності має потенційний ризик. Недавній огляд акушерських випадків показав, що 3% вагітних жінок з SARS-CoV-2 потребують інтенсивної терапії. Були також випадки передчасних пологів і перинатальної смерті на тлі інфікування матері SARS-CoV-2. Невідомо, чи може вірус передаватися вертикально від матері до новонародженого. Враховуючи, що SARS-CoV-2 викликає запальні, коагуляційні та ендотеліальні зміни, дослідження залучення плаценти та плода під час інфікування має вирішальне значення для надання рекомендацій та догляду за вагітними пацієнтками.

Коронавіруси (CoV) належать до родини *Coronaviridae*, групи одноланцюгових РНК-вірусів з позитивною оболонкою, розділених на чотири роди: альфа-, бета-, гамма- та дельта-CoV. Відомо, що альфа- та бета-CoV інфікують як людей, так і тварин [13]. Геном коронавірусів кодує два великі поліпротеїни, спайковий білок (S), білок оболонки (E), мембранний білок (M) і білки нуклеокапсиду (N). S-білки складаються з N-кінцевої субодиниці S1, яка розпізнає та зв'язується з клітиною-господарем, і C-кінцевої субодиниці S2, що відповідає за злиття мембрани. SARS-CoV-2 і SARS-CoV приблизно на 80% схожі на послідовність геному, але спорідненість його S-білкового рецептора приблизно в 10–20 разів вища, ніж у SARS-CoV, що може бути причиною того, чому він поширюється швидше [14].

Коронавіруси людини зазвичай викликають легкі інфекції верхніх і нижніх дихальних шляхів, хоча вони можуть проявлятися як важка пневмонія або бронхіоліт. Шлунково-кишкові симптоми також можуть виникати при інфекції. Вважалося, що коронавіруси не мали клінічного значення до 21 століття. З 2002 року було описано три нові коронавіруси: SARS-CoV у 2002 році, коронавірус Близькосхідного респіраторного синдрому (MERS-CoV) у 2012 році та SARS-CoV-2 у 2019 році. Схоже, що SARS-CoV в основному вражає клітини миготливого епітелію через рецептор ангіотензиноперетворюючого ферменту 2 (АПФ2). АПФ2 експресується в серцево-судинній системі, кишковій тканині, жировій тканині, легенях, нирках, плаценті та тканинах плоду.

SARS-CoV-2 також зв'язується з АПФ 2, щоб проникнути в клітини [15].

Ці три спалахи були спричинені бета-CoV, резервними хазяями яких є кажани, що передають вірус проміжним хазяям, таким як пальмові цивети (SARS-CoV) і верблюди-верблюди (MERS-CoV), перед розповсюдженням серед людей. Клінічні прояви коронавірусів, ймовірно, зумовлені як прямим

пошкодженням клітин, так і реакцією господаря. Коронавірусні інфекції людини пов'язані зі збільшенням рівня інтерферону (IFN)- γ та інтерлейкіну (IL)8. Інфекції SARS-CoV і MERS-CoV призводять до збільшення прозапальних цитокінів, асоційованих із клітинами Т-хелперів (Th)1: IL-1 β , IL-6 і фактор некрозу пухлин (TNF). Ці інфекції також викликають сповільнену, знижену протівірусну активність IFN [16].

Інфекція SARS-CoV-2 супроводжується подібними прозапальними змінами як інфекції SARS-CoV і MERS-CoV. Підвищений рівень цитокінів, асоційованих з клітинами Th2, також виявляються при інфекціях SARS-CoV-2. Тому існує широкий інтерес щодо розробки вакцини проти SARS-CoV-2. Однак попередні дослідження показують, що довготривалий імунітет може бути недосяжним. Під час випробувань на людях рівень імуноглобулінів IgG та IgA зростав приблизно через 2 тижні після зараження коронавірусом людини, проте ці антитіла швидко знижувалися. Особи, які раніше були інфіковані коронавірусом людини, практично не мають захисту від повторного зараження в наступному сезоні [17].

Незважаючи на кількість спалахів, спричинених SARS-CoV-2, даних про їх вплив на вагітність людей було обмежено до 2020 року, коли пандемія COVID-19 привернула увагу. Інфекція SARS-CoV пов'язана з критичною хворобою матері, передчасним розривом плодових оболонок, спонтанним абортom або смертю матері. Інфекція MERS-CoV під час вагітності була пов'язана з початком преєклампсії у понад 19% випадків, а також з перинатальними несприятливими наслідками, такими як мертвонародження та неонатальна смерть. У кількох дослідженнях про випадки SARS-CoV-2 відомості про материнська смертність були майже відсутні, а хвороба мала легкий перебіг у більшості вагітностей (> 90%) незалежно від гестаційного віку, на якому відбулося інфікування [18].

За даними літератури [19], більшість вагітних жінок з інфекцією SARSCoV-2 народжували за допомогою кесаревого розтину, хоча наразі немає підтверджених доказів того, що вагінальні пологи або пологи за допомогою кесаревого розтину будуть шкідливими або безпечнішими, якщо є підозра або підтверджена COVID-19. Окрім того, інфекція SARS-CoV-2 може бути пов'язана з передчасними пологами, мертвонародженням і прееклампсією, проте дані щодо останніх двох випадків залишаються неоднорідними. Ці несприятливі результати вагітності можуть бути спричинені ускладненнями COVID-19, а не інфекцією як такою. Продемонстровано, що важка інфекція SARS-CoV-2 призводить до гіпоксії матері з подальшою ішемією плаценти. Це може посилити вироблення запальних елементів. Неконтрольоване вивільнення запальних цитокінів може посилити імунну відповідь матері та збільшити ризик пошкодження плаценти, абортів або передчасних пологів [20].

У літературі [21] описано, що вірусне навантаження в плазмі SARSCoV-2 у випадках COVID-19 позитивно корелює з важкістю захворювання. Немовлята, народжені від матерів із важким захворюванням COVID-19, демонструють високі показники позитивності на SARS-CoV-2 у мазку з плаценти та носоглотки одразу після народження, що підтверджує те, що материнська вірусемія є необхідною умовою для трансплацентарної передачі. Виходячи з поточних звітів, можна очікувати, що інфекція SARS-CoV-2 у 2-му та 3-му триместрах вагітності має середньотяжкий перебіг і більшість новонароджених залишаються здоровими. Таким чином, вроджена імунна система, плацентарний бар'єр, а також взаємодія між децидуальними імунними клітинами можуть відігравати роль у плацентарних захисних механізмах проти інфекції та передачі SARS-CoV2.

Вірусні інфекції під час вагітності мають широкий спектр плацентарної та неонатальної патології. Численні віруси викликають мимовільні аборти.

Вроджені вірусні інфекції у новонароджених можуть призвести до довічної інвалідності, сепсису, мультисистемного ураження органів. Потенційні механізми фетальної інфекції включають контакт між материнським ендотелієм і цитотрофобластом, інфіковані материнські макрофаги, висхідні уrogenітальні інфекції та поширення з крові матері в капіляри плода. І нарешті, інфекції від матері можуть передаватися новонародженому під час пологів [22].

Однак досі немає достатніх даних для оцінки впливу інфекції SARSCoV-2 на здоров'я вагітних та новонароджених. Звернемося до фізіологічних імунологічних змін в організмі вагітної жінки. Їх характерно таке:

1. Підвищення рівня циркулюючого прогестерону. Прогестерон – це стероїдний гормон, що володіє імуномодулюючими властивостями. Прогестерон також посилює відновлення легень після ушкоджень, спричинених вірусом грипу, що робить його високий рівень під час вагітності потенційно корисним для відновлення після вірусних легневих захворювань. Однак в експериментах на мишах з грипом А після лікування прогестероном або прогестином, левоноргестрелом відбувалося зниження рівня вірусоспецифічних антитіл, а також зниження вмісту вірусоспецифічних CD8⁺ Т-клітин. Повторне зараження мишей грипом А призводило до тяжчого перебігу захворювання. Тому важливими є подальші дослідження для розуміння ролі пов'язаних із вагітністю змін рівня прогестерону, естрогенів, андрогенів та інших гормонів, які можуть сприяти імунорегуляції у відповідь на інфекцію COVID-19 [23].

2. За відсутності вагітності запалення, викликане проникненням вірусу, приваблює Т-клітини (переважно Th-1 CD4⁺), які можуть знешкодити інфіковані клітини та запобігти подальшому поширенню та реплікації вірусу. Далі вірус блокується антитілами, що нейтралізують, а макрофаги очищають нейтралізовані віруси і апоптотичні клітини шляхом фагоцитозу. Під час вагітності відбувається зсув популяції CD4⁺ Т-клітин (з переважанням Th-2),

що може призвести до зміни кліренсу інфікованих клітин за імунної відповіді на вірусні інфекції [3].

3. Під час вагітності знижується кількість циркулюючих природних клітин-кілерів, що, в свою чергу, ймовірно, знижує здатність організму до очищення від вірусів. Однак на даний момент незрозуміло, чи має це зниження циркулюючих клітин-кілерів будь-які клінічні наслідки при COVID-19.

4. Під час вагітності зменшується кількість дендритних клітин у плазмі. Дендритні клітини – це гетерогенна популяція антигенопредставляючих клітин кістковомозкового походження. Ці клітини є важливими для продукції інтерферону типу I, спрямованого проти вірусів. Раніше показано, що дендритні клітини плазми, отримані від вагітних жінок, володіють ослабленою запальною відповіддю на вірус свинячого грипу H1N1. Вважається, що це одна з причин, через яку жінки з вагітністю постраждали під час пандемії H1N1 у 2009 році [24].

5. Під час вагітності відбуваються зміни в імунній системі, зокрема, вони стосуються Toll-подібних рецепторів. Toll-подібні рецептори (TLR) – клас клітинних рецепторів із одним трансмембранним фрагментом, які розпізнають консервативні структури мікроорганізмів та активують клітинну імунну відповідь. Відіграють ключову роль у формуванні вродженого імунітету. Інфекція COVID-19 викликає піроптоз клітин-господарів та вивільнення низки ендогенних лігандів DAMPs (молекул, які вивільняються у відповідь пошкодження клітини), забезпечуючи швидку реакцію клітини, ще більше посилюючи запальну відповідь [5].

Окрім змін, що відбуваються в імунній системі при вагітності, є ще й системні фізіологічні зміни в судинному руслі, зокрема збільшення об'єму материнської крові, збільшення частоти серцевих скорочень, та, як наслідок, збільшення серцевого викиду на 30-50%, зниження судинного опору; у

дихальній системі – зниження функціональної залишкової ємності. Вагітність – це стан гіперкоагуляції з підвищеним утворенням тромбіну та посиленням внутрішньосудинного запалення. Тому всі зазначені фактори дозволяють припустити більшу вразливість вагітних по відношенню до інфекції COVID-19, ніж у загальній популяції [25].

1.2. Взаємодія вірусних білків SARS-CoV-2 та плаценти

Нині накопичення даних підтверджує, що SARS-CoV – це не просто респіраторні віруси, які можуть впливати на інші системи органів, включаючи плаценту. Однак остаточних доказів наявності SARS-CoV і MERS-CoV інфекції плаценти або плоду немає. Такі зразки, як материнська або пуповинна кров від інфікованих вагітних пацієнток, дали негативний результат на SARS-CoV і MERS-CoV. Таким чином, несприятливі наслідки цих вірусів для плода можуть бути пов'язані з важким гострим респіраторним захворюванням і впливом на весь організм матері, а не з вірусною інфекцією як такою [20].

Навпаки, мРНК білка N і S вірусу SARS-CoV-2 були успішно ідентифіковані в плацентах і експресуються в синцитіотрофобласті, низько експресуються в цитотрофобласті, стромальних клітинах, ендотеліальних клітинах ворсинок хоріона та міжворсинчастих моноклеарних клітинах [25]. Вірусна мРНК була виявлена також шляхом гібридизації *in situ* в децидуальних ендотеліальних клітинах і ендометріальних залозах. У декількох повідомленнях щодо випадків вагітних жінок з COVID-19 зазначено про віріони в плацентарній тканині. За допомогою трансмісійної електронної мікроскопії віріони були знайдені в різних клітинах плаценти, таких як синцитіотрофобласт, материнські макрофаги та клітини Гофбауера. Вони були локалізовані в мікроросинках і розширеннях фіброblastів у термінальних ворсинках, а також у фетальних капілярних ендотеліальних клітинах поблизу

поверхні ворсинок і близько до внутрішньосудинних мононуклеарних клітин. Звіт про випадок засвідчив, що плацента була позитивною на гени E і S SARS-CoV-2 за допомогою RT-PCR. Інтенсивну цитоплазматичну позитивність EVT спостерігали за допомогою імунного фарбування з використанням антитіла проти N-білка SARS-CoV-2. Окрім того, доведено, що вірусне навантаження в плацентарній тканині вище, ніж в амніотичній рідині або материнській крові, що вказує на реплікацію вірусу в клітинах плаценти [26].

Коронавірусна інфекція залежить від взаємодії з рецепторами чутливих типів клітин. Субодиниця S1 білка S зв'язується з ангіотензинперетворюючим ферментом 2 (АПФ2), вірусним рецептором SARS-CoV і SARS-CoV-2, або з дипептидилпептидазою 4 (DPP4), вірусним рецептором MERS-CoV. АПФ2 виявляється на ендотеліальних клітинах, епітелії кишечника та дихальних шляхів, де клітини війок і альвеоли типу II є основними клітинами-мішенями. DPP4, також відомий як CD26, експресується на епітеліальних клітинах у нирках, тонкому кишечнику, печінці та легневих альвеолах. DPP4 є ключовим фактором активації Т-клітин і коstimулюючих сигналів імунної відповіді в Т-клітинах, що може свідчити про можливу маніпуляцію імунною системою хазяїна вірусом. Рецептори MERS-CoV ANPEP і DPP4 виявлені в клітинах плаценти під час першого та другого триместрів [20].

Класичний спосіб доступу SARS-CoV-2 до клітин людини здійснюється переважно через АПФ2, але він також може зв'язуватися з CD147/базигіном (BSG) на альтернативному шляху проникнення. Були виявлені інші фактори входу в організм господаря, включаючи нейропілін-1 і TMPRSS2, трансмембранну серинову протеазу, яка бере участь у дозріванні білка S (LEE 2020). Людські протеази, такі як ендосомальна протеаза катепсин L (CTS L), катепсин В (CTS B) і фурин, також сприяють проникненню вірусу [27].

АПФ2 і TMPRSS2 також експресують FURIN, CTS B і ендосомальні сортувальні комплекси, необхідні для транспорту (ESCRT) генів, які беруть участь у брунькуванні вірусу та реплікації. Ця спільна експресія АПФ2 та АПФ2/TMPRSS2 у плаценті людини може підвищити вразливість плаценти та плоду до інфекції SARS-CoV-2 та сприяти її вертикальній трансплацентарній передачі [20].

Припускають, що ускладнення вагітності внаслідок плацентарної інфекції SARS-CoV-2 можуть бути спровоковані зниженням регуляції АПФ через утворення комплексів вірус-АПФ2. Це спричиняє зниження рівня ангіотензину в плазмі крові, що, в свою чергу, посилює вазоконстрикцію та прокоагуляцію, потенційно призводячи до раннього початку легеневої емболії. Тропність SARS-CoV-2 до ендотелію через рецептор АПФ2 підвищує сприйнятливості до дисфункції ендотелію судин, що призводить до стану коагулопатії в інфікованих пацієнтів і сприйнятливості до утворення мікротромбів. Інфекція SARS-CoV2 збільшує інфільтрацію міжворсинчастих макрофагів в інфікованій плаценті. Така інфільтрація макрофагами може служити тригером для сильної імунної відповіді, що призводить до руйнування тканин і дисфункції плаценти, що викликає ускладнення вагітності. Наявність віріонів у цитоплазмі судинних моноцитів плоду також може відігравати певну роль у передачі та поширенні SARS-CoV-2 плоду. Дослідження *in silico* показують, що SARS-CoV-2 може впливати на функції плаценти, впливаючи на інші білки, такі як ті, що беруть участь у інвазії, міграції, синцитиалізації та імплантації трофобласта. Опубліковані на сьогодні дані не виявили ознак SARS-CoV-2 у грудному молоці, вагінальних секретах або зразках відлущених клітин шийки матки інфікованих матерів [28].

У літературі [29] описано, що АПФ2 і TMPRSS2 проявляють негативну кореляцію з гестаційним віком. Вони експресуються в плаценті з тенденцією до зменшення до пологів. Таким чином, вагітні жінки можуть бути більш уразливими до трансплацентарної передачі SARS-CoV-2 протягом першого триместру, ніж на пізніх стадіях вагітності.

Дійсно, плацентарна інфекція, здається, рідкість. Однак коагуляція та запалення, пов'язані з SARS-CoV-2, виникають навіть за відсутності плацентарної інфекції, що найчастіше проявляється у вигляді міжворсинчастого тромбозу та відкладення фібрину. Слизова оболонка матки – це материнська тканина, в яку імплантується плацента, і під час вагітності називається децидуальною оболонкою. Дослідження децидуальної оболонки під час вагітності, ураженої SARS-CoV-2, продемонструвало локальну активацію материнських природних клітин-кілерів і Т-клітин, включаючи експресію генів, пов'язаних із прееклампсією [30].

Більш важкий запальний синдром виникає, коли плацента інфікується; а саме плацентит SARS-CoV-2. Це характеризується гістіоцитарним інтервілозитом, відкладенням фібрину навколо ворсинок і некрозом трофобласта, та стає фактором ризику дистресу плода або його смерті. Серія з 68 випадків плацентиту SARS-CoV-2, пов'язаного з мертвонародженням або смертю новонародженого, виявила, що причинами смерті, швидше за все, були гіпоксично-ішемічні ушкодження плода в результаті серйозного пошкодження плаценти, а не інфекція плода SARS-CoV-2 [30].

1.3. Клінічні прояви коронавірусної інфекції у вагітних

Найпоширенішими симптомами, про які повідомляли вагітні з підозрою або підтвердженням COVID-19, були висока температура (68%) і кашель (34%),

інші симптоми включають задишку (12%), діарею (6%) і нездужання (12%). Ці клінічні прояви подібні до таких у невагітних жінок.

За ступенем тяжкості захворювання COVID-19 класифікується як легка (симптоматична або легка пневмонія), важка (тахіпное ≥ 30 вдихів/хв, або насичення киснем $\leq 93\%$ у спокої, або $PaO_2/FiO_2 < 300$ мм рт.ст.) та критична (дихальна недостатність, що потребує ендотрахеальної інтубації, шок або інша органна недостатність, що потребує інтенсивної терапії) форма, що становить 81%, 14% та 5% випадків у загальній популяції відповідно за даними ВООЗ. Це свідчить про те, що більшість вагітних жінок із COVID-19 мають більш легкі симптоми порівняно із загальною популяцією.

Важка форма COVID-19 зареєстрована переважно в людей похилого віку (>60 років), людей з пригніченим імунітетом і тих, хто має такі супутні захворювання, зокрема, діабет, гіпертонію та хронічні захворювання легенів. Більшість вагітних жінок молодше середнього віку, однак важливо враховувати потенційний вплив наявної гіперглікемії та гіпертензії на результати COVID-19 у вагітних жінок.

Результати досліджень показали, що у вагітних жінок, у яких розвивається пневмонія COVID-19, частота госпіталізацій у відділення інтенсивної терапії (BIT) така ж, як і у невагітних жінок, але вищі показники передчасних пологів і пологів за допомогою кесаревого розтину. Рівень смертності від SARS і MERS становив 25% і 27% відповідно, порівняно з лише 1% для COVID-19 [8].

Лихоманка є найпоширенішим проявом у пацієнтів з COVID-19, і це може бути пов'язано з підвищеним ризиком вроджених аномалій, включаючи дефекти нервової трубки та викидні під час органогенезу в першому триместрі. При призначенні жарознижуючих засобів слід уникати

нестероїдних протизапальних засобів, оскільки вони пов'язані з вищим ризиком викидня на ранніх термінах вагітності та легеневої гіпертензії плода після 30 тижнів вагітності. За протоколами лікування у першій лінії захисту від лихоманки нині використовують ацетамінофен (парацетамол), що може знизити ризики під час вагітності.

Повідомляється, що вагітні жінки з ГРВІ мають високий рівень викиднів. Отже, на цьому етапі не можна виключити підвищений ризик викидня у жінок із COVID-19 через відсутність даних про інфікування COVID-19 у першому триместрі. У жінок з COVID-19 і вагітністю, що триває, доцільно проводити спостереження на предмет затримки росту плода, враховуючи, що затримка росту плода спостерігалася під час більшості вагітностей, які тривали з ГРВІ.

У жінок з SARS та MERS кесарів розтин найчастіше був показаний через гіпоксемію матері. Оскільки захворювання матері, викликане COVID-19, здається, не таке важке, як SARS і MERS, висока частота кесаревого розтину (майже всі) є необґрунтованою, і потрібен додатковий аналіз.

Найпоширенішими лабораторними результатами були підвищені рівні С-реактивного білка, підвищені рівні прокальцитоніну, лімфопенія і підвищена кількість лейкоцитів. Порівняно з невагітними жінками репродуктивного віку з COVID-19, вагітні пацієнтки з цим захворюванням рідше повідомляли про симптоми лихоманки, задишки та міалгії. Проте вагітні жінки з COVID-19 частіше мали супутні захворювання, ніж невагітні жінки або старше були 35 років [32].

У літературному огляді [33] зазначено, у 4,03% вагітних із COVID-19 спостерігається зниження кількості тромбоцитів виявлено. Концентрації трансамінази та D-димеру були підвищені у 25% та 82,14% пацієнтів відповідно. Проте повідомлялося про інші параметри, хоч вони були значними прогностичними значеннями при COVID-19, тестувалися рідше. Концентрації

прокальцитоніну, міокардіального ферменту та ІЛ-6 були підвищені у 38%, 44,44% і 100% вагітних відповідно.

Факторами ризику матері, пов'язаними з важкою формою COVID-19, були збільшення віку, високий індекс маси тіла, будь-яка супутня патологія матері, хронічна гіпертензія, преєклампсія, гестаційний діабет та наявний діабет.

У літературі [16] зазначається, що «фізіологічні зміни в організмі вагітних жінок характеризуються підвищеною секрецією та застійних явищах у верхніх дихальних шляхах, збільшенні параметрів грудної клітки та зміщенні вгору діафрагми. Наслідком таких змін виступає зменшення залишкового та збільшення дихального об'ємів, часткове зниження опору дихальних шляхів, підвищена щохвилинна легенева вентиляція та чутливість до вуглекислого газу. Гемодинамічні зміни включають збільшення обсягу плазми крові на 20% до 50%, збільшення серцевого викиду й зниження судинного опору. Ці зміни призводять до стану фізіологічної задишки, респіраторного алкалозу, а також підвищеної сприйнятливості до респіраторних збудників. Клінічно іноді ранні симптоми інфекції SARS-CoV-2 можуть імітувати фізіологічну задишку під час вагітності, що може спричинити затримку діагностики захворювання. У вагітних жінок з інфекцією SARS-CoV-2 можуть спостерігатися тяжчі симптоми порівняно з невагітними жінками. Існують незначні дані про швидке погіршення стану в жінок, які не мали симптомів після повернення з подорожі, проте згодом цим жінкам встановлювали діагноз тяжкого перебігу COVID-19. У деяких із них, проте не в усіх, спостерігалися супутні захворювання, такі як гіпертонія, діабет, холестаза вагітності. Також дослідники повідомили про випадки швидкого погіршення стану матері з діагнозом кардіоміопатії. На жаль, ці

швидко прогресуючі ускладнення приводили найчастіше до розродження шляхом кесаревого розтину».

Досить поширеним ускладненням, пов'язаним із вагітністю, яке посилюється при COVID-19, є преєклампсія. Результати досліджень підтверджують, що «клінічна діагностика також ускладнюється через подібність лабораторних відхилень в обох станах. Тому складно відрізнити чим спричинені лабораторні порушення – інфекцією SARS-CoV-2 чи гестозом, відповідно лікувальні стратегії можуть бути помилковими. Наприклад, тромбоцитопенія і порушення функції печінки є діагностичними критеріями як преєклампсії, так і погіршення перебігу COVID-19. Існують відмінності залежно від триместру вагітності. Імунологічно виділяють три стадії вагітності:

- ✓ у I триместрі спостерігається складний прозапальний ланцюг, що забезпечує трофобластичну інвазію;
- ✓ у II триместрі (від 13 до 27 тижнів) протизапальна відповідь необхідна для адекватного росту плода та для запобігання мимовільному початку пологів;
- ✓ у III триместрі стан повертається до стимуляції прозапальної відповіді для підготовки організму до пологів.

Кожна з цих стадій потребує балансу, тому порушення його вірусними інфекціями може призводити до ускладнень стану вагітної або внутрішньоутробного росту плода. Теоретично, під час стадії запалення вагітні були б більш схильні до розвитку цитокінового шторму, що є показником тяжкості при SARS-CoV-2» [16].

Наразі незрозуміло, чи може SARS-CoV-2 передаватися вертикально. Більшість повідомлень про випадки вагітності з позитивним результатом SARS-CoV-2 підтверджують негативні результати ПЛР на SARS-CoV-2 у

новонароджених, плаценті, пуповинній крові та вагінальних виділеннях. Більшість новонароджених у цих випадках мали госпіталізацію без ускладнень. Однак є випадки новонароджених, у яких після пологів був позитивний тест на SARS-CoV-2, а також у кількох новонароджених, які мали позитивні антитіла IgM до SARS-CoV-2. IgM не проникає через плаценту. SARS-CoV-2 IgM може з'явитися вже через кілька днів після зараження, але досягає піку приблизно через 2 тижні. Таким чином, наявність IgM у новонародженого після пологів може свідчити про вроджену інфекцію [11].

Також є повідомлення про плацентарну інфекцію SARS-CoV-2. У звіті про випадок зі Швейцарії 26-річна жінка з інфекцією SARS-CoV-2 мала передчасні пологи та загибель плода на 19 тижні вагітності. Тканина плода була негативною на SARS-CoV-2; однак ПЛР фетальної поверхні плаценти виявилася позитивною. Патологія плаценти відзначалася ділянками запалення, підвищеним відкладенням фібрину. ПЛР крові матері, вагінального секрету та сечі негативні на SARS-CoV-2.

Подібним чином, звіт про випадок з Італії описує двох новонароджених із позитивним результатом на SARS-CoV-2, народжених матерями з позитивним результатом на SARS-CoV-2. ПЛР плаценти була позитивною на SARS-CoV-2, а гібридизація *in situ* візуалізувала спайкові білки SARS-CoV-2 у шарі SYN обох зразків [34].

В іншому попередньо надрукованому випадку жінка в другому триместрі показала позитивний результат на SARS-CoV-2 на тлі преєклампсії та відшарування плаценти. Новонароджений був негативним на SARS-CoV-2; однак вірус SARS-CoV-2 був виявлений у шарі SYN плаценти. Ці випадки демонструють, що SARS-CoV-2 може заразити плаценту.

Продемонстровано, що інфекція SARS-CoV-2 викликає запальні та судинні зміни в плаценті. Неінфекційне запалення викликає подібне

пошкодження ендотелію плаценти та тромби у мишей. Крім того, інфекція SARSCoV-2 може викликати гіперкоагуляцію в плаценті, як було показано в інших органах. Незалежно від механізму, ці зміни плаценти можуть мати шкідливий вплив як на матір, так і на плід. У мишачій моделі ендотеліальні та тромботичні зміни в плаценті пов'язані зі зміненим судинним кровоплином до плода та подальшим нервовим запаленням. Таким чином, діти, народжені жінками, інфікованими SARS-CoV-2, можуть мати подібне неврологічне запалення до народження [35].

1.4. Лабораторна діагностика COVID-19

За умов наявності факторів, що засвідчують ймовірність перебігу коронавірусної інфекції, викликаної SARS-CoV-2, пацієнтам незалежно від виду надання медичної допомоги проводиться комплекс клінічного обстеження з метою визначення ступеня важкості стану.

Діагноз встановлюється на основі клінічних обстежень, даних епідеміологічного анамнезу та результатів лабораторних досліджень:

1. Оцінка анамнезу захворювання:

- ✓ наявність закордонних поїздок за 14 днів до появи перших симптомів;
- ✓ наявність за останні 14 днів тісних контактів з особами, у яких підозрюють інфікування SARS-CoV-2, або позитивний результат підтверджено лабораторно.

2. Обстеження щодо встановленням ступеня важкості стану пацієнта:

- ✓ термометрія;
- ✓ оцінка рівня свідомості;
- ✓ пульсоксиметрія;
- ✓ вимірювання частоти серцевих скорочень, артеріального тиску;

- ✓ оцінка видимих ділянок слизових оболонок верхніх дихальних шляхів;
- ✓ визначення частоти дихальних рухів;
- ✓ пальпація лімфатичних вузлів;
- ✓ УЗД органів черевної порожнини для визначення розмірів печінки та селезінки.

3. Загальна клініко-лабораторна діагностика:

- ✓ загальний аналіз крові (кількість еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, гематокрит, лейкоцитарна формула, співвідношення нейтрофіли/лімфоцити – один із ключових прогностичних маркерів, у пацієнтів з COVID-19 часто спостерігається лімфопенія);
- ✓ біохімічний аналіз крові (ниркові проби – сечовина, креатинін; печінкові проби – білірубін, альбумін, АЛТ, АСТ, ЛФ, ГГТ; глюкоза, електроліти). Зазначається, що біохімічний аналіз крові не дає будь-якої специфічної інформації, але дозволяє виявити відхилення, які можуть вказувати на наявність органної дисфункції, декомпенсацію супутніх захворювань і розвиток ускладнень, мають певне прогностичне значення, впливають на вибір терапевтичних засобів та/або режим їх дозування;
- ✓ рівень С-реактивного білка (СРБ) в сироватці крові, що корелює з важкістю перебігу, поширеністю запальної інфільтрації та прогностичним маркером під час пневмонії;
- ✓ пульсоксиметрія з вимірюванням SpO_2 , що дозволяє виявити дихальну недостатність та оцінити виразність гіпоксемії. Пацієнтам із ознаками гострої дихальної недостатності (ГДН) (якщо за даними пульсоксиметрії SpO_2 становить менше 90%) рекомендується здійснити дослідження газів артеріальної крові з визначенням PaO_2 , $PaCO_2$, рН, бікарбонатів, лактату.

Пацієнтам, які мають ознаки ГДН, рекомендовано обов'язково виконувати коагулограму для оцінки протромбінового часу, міжнародного

нормалізованого відношення та активованого часткового тромбопластинового часу [36].

4. Специфічна лабораторна діагностика:

Золотим стандартом специфічної діагностики є аналіз полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскриптазою (RT-PCR) у реальному часі. Основним видом біоматеріалу для лабораторного дослідження є матеріал, отриманий при заборі мазка з носоглотки і/або ротоглотки.

Як додатковий матеріал для дослідження можуть використовуватися промивні води бронхів, отримані при фібробронхоскопії (бронхоальвеолярний лаваж), назофарингеальний та ендотрахеальний аспірати, мокроти, біопсійний або аутопсійний матеріал легень.

5. Інструментальна діагностика:

Рентгенографія грудної клітки і комп'ютерна томографія грудної клітки (КТ) використовуються для оцінки ступеня важкості та подальшого спостереження за COVID-19. КТ грудної клітки більш чутлива на ранній стадії інфекції. Однак занепокоєння щодо потенційного тератогенного впливу радіації на плід неминуче. Прийнятою кумулятивною дозою іонізуючого випромінювання під час вагітності є 5 рад, і жодне діагностичне дослідження не перевищує цю дозу. Рівень опромінення плода при рентгенографії матері у двох ракурсах становить лише 0,00007 рад, а 10 зрізів КТ грудної клітини призводять до опромінення <0,1 рад. Тому вагітним жінкам із підозрою на COVID-19 можна розглядати та безпечно проводити рентгенографію та КТ, якщо є показання. Абдомінальний захисний екран над вагітною маткою також можна використовувати для додаткового захисту плода. Ультразвукове дослідження легенів також було запропоновано для швидкої діагностики пневмонії у вагітних [37].

Отже, діагностування коронавірусної інфекції у вагітних відбувається за загальними принципами. Використовуються усі вищеперераховані методи діагностики, зокрема, рентгенологічне дослідження.

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та методи досліджень

У даній роботі проаналізовані 22 виписки з історій хвороб вагітних, які були госпіталізовані до КП «Хмельницький міський перинатальний центр».

Вік вагітних пацієнток із коронавірусною інфекцією коливався від 25 до 38 років. Середній термін вагітності на момент госпіталізації становив 36 тижнів (період гестації 34–37 тижнів). Усі пацієнтки спостерігалися у жіночій консультації. При збиранні анамнезу 90 % вагітних заперечували перенесені хронічні соматичні захворювання. Алергологічний та спадковий анамнез не обтяжений. В контакті з інфекційними хворими на туберкульоз не перебували.

У вагітних були скарги на загальну слабкість, в'ялість, знижений апетит. Перші клінічні прояви хвороби – біль у горлі, що супроводжувалась підвищенням температури до 38 °С. Амбулаторно отримували жарознижуючі, декатилен, лізак тощо.

Незважаючи на симптоматичну терапію, враховуючи погіршення самопочуття, появу сухого кашлю і підйоми температури до фебрильних значень (гіпертермічний синдром з підвищенням температури тіла 38–38,7 °С) вагітні були госпіталізовані до профільного стаціонару з підозрою на COVID-19 на 3–5-ту добу від початку захворювання.

Стан розцінено як середнього ступеня важкості. Частота дихальних рухів – 18 за хвилину, за даними аускультації над легеневими полями вислуховувалося жорстке дихання. SpO₂ 94–98%. Пульс 101±6 за хвилину, ритмічний. АТ 110/70 мм рт. ст.

Діагноз в період поступлення: ГРВІ. Коронавірусна інфекція COVID-

19? Дихальна недостатність I ступеня. Анемія легкого ступеня.

Відповідно до тимчасових методичних рекомендацій з профілактики, діагностики та лікування коронавірусної інфекції COVID-19, виконано весь алгоритм обстеження: комп'ютерну томографію легень, фетометрію, доплерометрію, УЗД органів черевної порожнини, загальний аналіз крові, біохімічне дослідження крові, загальний аналіз сечі, тест на COVID-19.

Хворим вагітним був поставлений діагноз – полісегментарна пневмонія, гострий перебіг на тлі коронавірусної інфекції.

Аналіз клініко-лабораторних та біохімічних показників здійснювали в динаміці перебігу захворювання: в період поступлення у відділення (1 день), 3 день госпіталізації, період родорозрішення (6-7 день госпіталізації).

2.2. Методи проведення тесту на SARS-CoV-2

Тест на SARS-CoV-2 проводили методом ПЛР, використовуючи реагенти BAG Diagnostics (Німеччина), сертифіковані системою CE (IVD), на аналізаторі CFX-96 BioRad (США) у відділі молекулярно-генетичних досліджень або методом імуноферментного аналізу.

ПЛР-тест дозволяє визначити в організмі людини наявність SARSCoV-2, що вважається збудником COVID-19, при визначенні його генетичного матеріалу (РНК). Для забору біологічного матеріалу використовували зішкріб зі слизової оболонки носових пазух і глотки. У зв'язку з високою аналітичною чутливістю (100 копій РНК/мл), ПЛР-тест Abbott (США) дозволяє виявити вірус навіть при низькому вірусному навантаженні.

ПЛР-дослідження виявляє вірус, тобто його генетичний матеріал. Тест дозволяє оцінити вірусне навантаження та вірогідну стадію розвитку COVID-19.

Імуноферментний аналіз – це аналіз, за допомогою якого виявляється комплекс «антиген-антитіло», який виробляється, коли організм уражений вірусом. Цей комплекс утворюється завдяки імунологічній реакції антигену з антитілом.

Метод ІФА дозволяє визначити два типи імуноглобулінів: М і G. Якщо виявляють Ig М – це розвиток гострого процесу захворювання, якщо Ig G – це означає перенесене захворювання або попереднє інфікування вірусом і антитіла до цього захворювання уже виробилися.

2.3. Загальний клінічний аналіз крові

Загальний клінічний аналіз крові оцінювали за допомогою автоматизованого 3-diff гематологічного аналізатора H360 компанії ERBA Diagnostics Mannheim (Великобританія).

Принцип вимірювання гематологічного аналізатора: кондуктометричний метод та фотометричний метод вимірювання гемоглобіну.

Дозволяє визначити 22 параметри:

- WBC (лейкоцити)
- RBC (еритроцити)
- HGB (гемоглобін)
- HCT (гематокрит)
- MCV (середній об'єм еритроцитів)
- MCH (середній вміст гемоглобіну в окремому еритроциті)
- MCHC (середня концентрація гемоглобіну в еритроцитарній масі, а не в цільній крові)
- PLT (тромбоцити)
- LYM (лімфоцити)
- MID (вміст еозинофілів, базофілів і моноцитів)

- GRA (гранулоцити)
- LYM% (кількість лімфоцитів від загальної кількості лейкоцитів),
- MID% (вміст еозинофілів, базофілів і моноцитів від загальної кількості лейкоцитів)
- GRA% (вміст гранулоцитів від загальної кількості лейкоцитів)
- RDW-SD (розподіл еритроцитів за об'ємом)
- RDW-CV (ширина розподілу еритроцитів)
- PDW-SD (розподіл тромбоцитів за об'ємом)
- PDW-CV (ширина розподілу тромбоцитів)
- MPV (середній об'єм тромбоцитів)
- PCT (тромбоцит – відношення об'єму тромбоцитів до загального об'єму крові)
- P-LCC (кількість великих тромбоцитів)
- P-LCR (загальний об'єм великих тромбоцитів).

2.4. Біохімічний аналіз крові

Біохімічний аналіз крові проводили на автоматичному біохімічному аналізаторі GBG GS-360 (США).

2.5. Визначення вмісту С-реактивного білка

Визначення рівня С-реактивного білка проводили латексним імунотурбідиметричним методом [39]. До складу набору входили:

- ✓ реагент 1 – 40 мл (гліциновий буфер);
- ✓ реагент 2 – 10 мл (суспензія частинок латексу, покритих антитілами до СРБ)
- ✓ калібратор – 1 мл (сироватка крові людини з атестованим значенням концентрації СРБ).

Принцип методу заснований на виявленні в сироватці крові білка гострої фази – С-реактивного білка, який вступає в реакцію з антитілами проти С-реактивного білка, що адсорбується на нейтральних частинках латексу. Реакція вважається позитивною, якщо спостерігається аглютинація частин латексу.



2.6. Визначення рівня інтерлейкіну-6 (IL-6)

Визначення концентрації IL-6 здійснювали методом твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) з посиленою чутливістю на мікропланшетах, використовуючи імуноферментний аналізатор Multiskan EX (Фінляндія).

У даній тест-системі використовували моноклональні антитіла (MAbs), спрямовані проти різних епітопів IL-6. Калібратори і дослідні зразки піддавали інкубації із захоплюючими моноклональними антитілами (MAb 1), які знаходились на поверхні лунок мікропланшету, та з моноклональними антитілами (MAb 2), міченими пероксидазою хрону (HRP). Така схема реакції супроводжувалась утворення сендвічу: MAb 1 – людський IL-6 – MAb 2 – HRP. Для видалення незв'язаних протеїнів після завершення реакції мікропланшет промивали.

Вміст зв'язаних мічених антитіл вимірювали в ензиматичній реакції шляхом додавання розчину хромогенного субстрату ТМБ. Реакцію зупиняли

за допомогою стоп-реагенту та вимірюють екстинкцію розчину, яка пропорційна концентрації ІЛ-6 у лунках мікропланшету.

В подальшому будували калібрувальну криву, а рівень ІЛ-6 у зразках визначали шляхом інтерполяції з калібруванням. Використання рідера для мікропланшетів (лінійність до 3 одиниць оптичної густини) та поліхроматичне зменшення даних дозволяють проводити аналіз зразків з високою чутливістю у низькому діапазоні концентрацій та розширеному діапазоні калібрування [40].

2.7. Статистичні методи

Статистичне опрацювання даних здійснювали методами варіаційної статистики, оцінюючи вірогідні різниці для абсолютних величин за критерієм Стьюдента. Усі результати оброблені з використанням статистичного пакета програми «Microsoft Excel 2016». Дані представлені у вигляді середнього і стандартної похибки вибіркового середнього значення. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$ [38].

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ретроспективні огляди вагітних жінок із COVID-19 засвідчують, що клінічні характеристики у вагітних аналогічні таким у невагітних жінок. За даними літератури [11], інфекція SARS-CoV-2 у вагітних жінок на сьогоднішній день відзначають наявність відносно легких симптомів серед цієї популяції, проте симптоматика може не відображати тяжкість запалення, спровокованого інфекцією.

Окрім неонатального імунітету, материнське запалення залучено до низки неонатальних наслідків. Як згадувалося вище, коронавіруси запускають рецептори розпізнавання, які призводять до активації транскрипційних програм, що, в свою чергу, індукують прозапальний «цитокіновий шторм», в

основному зумовлений продукуванням ІЛ-6. Як маркер запалення, так і прогностичний маркер, ІЛ-6 може передбачати прогресування захворювання у дорослих, як було зазначено в когорті вагітних пацієнток із важкою до критичної інфекції SARS-CoV-2 у США [41].

У відповідь на інфекцію під час вагітності активація імунної системи матері і запалення були пов'язані зі спектром несприятливих коротко- та довгострокових наслідків у немовлят. Сама по собі вагітність являє собою унікальну взаємодію модульованих імунних станів, які змінюються залежно від терміну вагітності. Реакція господаря на вірусну інфекцію під час вагітності індукує вироблення прозапальних цитокінів, таких як ІЛ-1 β , ІЛ-6 і TNF- α , які активують імунну систему матері та можуть долати плацентарний бар'єр. Таким чином, навіть за відсутності у плода вірусної інфекції або серйозних симптомів у матері плацентарна інфекція може спровокувати запальну реакцію, що призводить до ураження поліорганної системи.

При аналізі виписок історій хвороб вагітних із пневмонією, що розвивалася на тлі коронавірусної інфекції, нами відмічено, що в період 1–3 днів госпіталізації у пацієнток спостерігався гіпертермічний синдром (38–38,7°C), який змінювався субфебрильною температурою (37,2–37,6) (рис. 1).

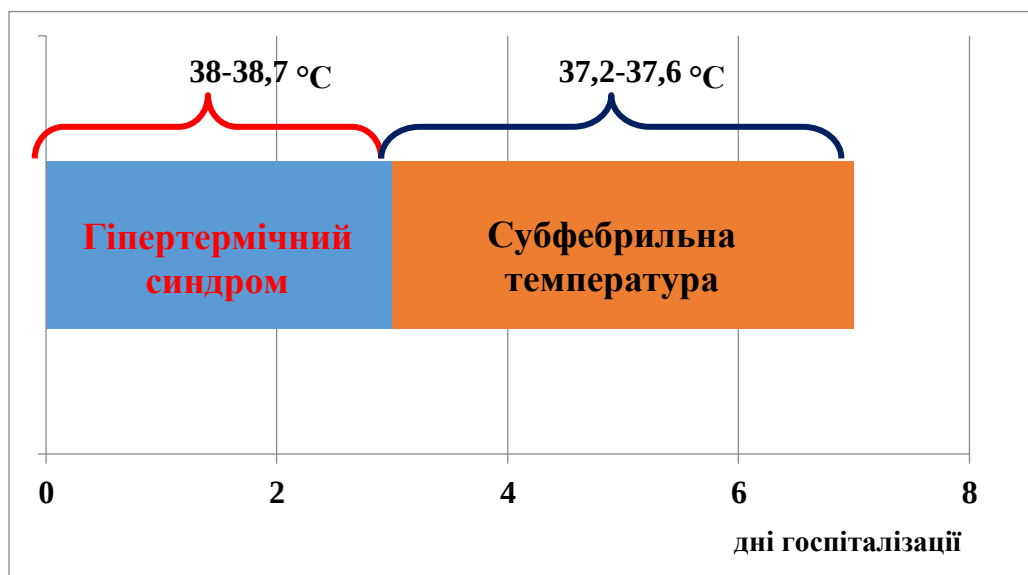


Рис. 1. Динаміка змін термометричних показників розвитку коронавірусної інфекції у вагітних

Незважаючи на проведення терапевтичних заходів фізіологічний стан пацієнток прогресивно погіршувався, основними клінічними проявами служили інтоксикаційний синдром та помірно виражена дихальна недостатність. Так, рівень сатурації (SpO_2) у вагітних пацієнток впродовж термінів госпіталізації помітно змінювався (рис. 2).

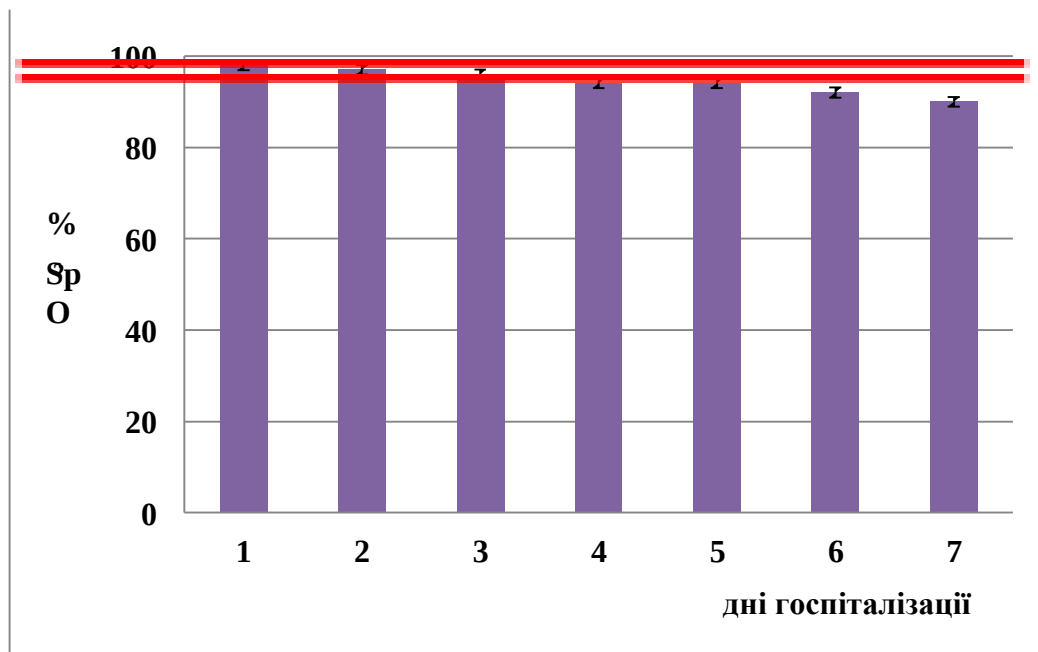


Рис. 2. Рівень сатурації (SpO_2) у вагітних за умов розвитку коронавірусної інфекції

Впродовж 1–3 днів госпіталізації міра насичення киснем артеріальної крові у вагітних з пневмонією, що розвивалась на фоні коронавірусної інфекції, складала 96–98 %, на 4–5 перебування у відділенні знижувалась до 94 %, а в період 6–7 днів – ставала критичною (92–90 %).

Низький рівень кисню в крові вказує на ураження легень, а не будьякий прояв COVID-19. Сатурація може допомогти виявити пневмонію на ранніх

стадіях при коронавірусній інфекції. Але такий спосіб працює не завжди: іноді пневмонія не призводить до зниження сатурації крові.

Таким чином, для неінвазивного моніторингу гіпоксемії в клінікодіагностичній практиці зазвичай використовується пульсоксиметрія (SpO_2), яка відображає насичення гемоглобіну киснем ($\text{HbO}_2\%$).

У проведених дослідженнях багаторазово було показано, що прогресування гіпоксії на ранній стадії захворювання у хворих на COVID-19 відбувається при нормальному рівні PaCO_2 (нормокапнії), що, мабуть, не є ознакою порушення регуляції дихання. Однак, як відомо, гіпоксія викликає гіпервентиляцію, котра призводить до гіпокапнії, що пригнічує центральні (медулярні) хеморецептори, внаслідок цього притуплюється вентиляторна реакція, що пояснює відсутність дихального дискомфорту (задишки) при гіпоксії. В даному випадку можна говорити про порушення механізмів регуляції дихання. Але оскільки респіраторний дистрес розвивається при підвищеному рівні CO_2 (гіперкапнії), то відповідні симптоми дисфункції дихання, мабуть, виявляються на пізніших стадіях розвитку хвороби, коли на тлі гіпоксії та гіперкапнії розвивається критична дихальна недостатність (порушення біомеханіки дихання, збільшення опору дихання; легеневої циркуляції, зміна структури альвеоло-капілярної мембрани, тромбоемболія тощо) [42].

Слід зазначити, що дихальна недостатність, у тому числі і прихована дихальна недостатність – це складна клінічна проблема, багато аспектів якої залишаються спірними. Вважається, що одним з об'єктивних показників дихальної недостатності є гіпоксемія. Обговорюючи потенційні механізми виникнення гіпоксії при COVID-19 слід враховувати безпосередній вплив вірусу SARS-CoV-2 на його клітинний рецептор (АПФ2), який експресується в сенсорних клітинах каротидного тіла, знижуючи чутливість гломерулних клітин

до дефіциту кисню. З цього випливає, що однією з можливих причин гіпоксемії у пацієнтів з COVID-19 може бути пригнічення периферичної хеморецепції [43].

Якщо пневмонія є первинним (основним) захворюванням то її тяжкість зумовлена саме гіпоксемією та інтоксикацією. Тому «при коронавірусній інфекції, як правило, спостерігається виражене зниження оксигенації. До певної міри (тимчасово) гіпоксична вазоконстрикція може обмежувати рівень шунтування крові, а відповідно, і гіпоксемії. Зрештою, цей рефлекс поступово послаблюється і навіть втрачається, а ступінь гіпоксемії починає відображувати ступінь важкості пневмонії» [9].

У літературі [43] зазначається, що «якщо гіпоксемія має досить чітке визначення та критерії ($\text{PaO}_2 < 60$ мм рт. ст. та $\text{SpO}_2 < 90$ %), то гіпоксія має дещо розмите визначення: стан коли орган(и) чи весь організм не отримує або не може утилізувати кисень для аеробного метаболізму. При цьому, поняття гіпоксії більш широке і включає в себе гіпоксемію, як одну з причин. Чітких критеріїв гіпоксії теж немає, оскільки в різних органах та тканинах може бути різна парціальна напруга кисню (PtO_2), і вони по-різному переносять це зниження PtO_2 . Загальновизнаним є хіба що непрямий критерій глобальної гіпоксії – прогресивне наростання концентрації лактату, як маркера анаеробного метаболізму глюкози (гліколізу).

Тому перебування у відділенні вагітних пацієнток в період 6–7 днів після госпіталізації в переважній більшості супроводжувалось оперативним родорозрішенням. Серед основних видів родорозрішення у вагітних із COVID-19 переважав екстрений кесарів розтин (54 %), у 32 % вагітних пацієнток зареєстровано передчасні пологи переважно на 34-35 тижнях вагітності, і лише 14 % вагітних із коронавірусною інфекцією за результатами клініко-

біохімічних аналізів рекомендовано було здійснити стимуляцію природних пологів.



Рис. 3. Частота видів родорозрішення за умов розвитку коронавірусної інфекції

Існуюча література містить суттєві докази на підтримку зв'язку між вірусними інфекціями матері та несприятливими результатами вагітності, включаючи передчасні пологи та низьку вагу при народженні. Вважається, що внутрішньоутробна інфекція може бути причиною до 40% передчасних пологів. Інтраамніотична інфекція викликає запальний каскад, який призводить до початку спонтанних пологів. Важливо відзначити, що описаний механізм може мати місце при запаленні за відсутності інфекційної етіології. Передчасні пологи та низька вага при народженні є головними глобальними причинами неонатальної смертності та смертності дітей у віці до п'яти років, а також факторами ризику сповільненого розвитку дітей і дорослих у подальшому житті [31].

Аналіз результатів клініко-лабораторного обстеження вагітних із пневмонією, гострий перебіг якої відбувався на тлі коронавірусної інфекції, вказує на зниження концентрації гемоглобіну (рис. 4, а) та вмісту еритроцитів (рис. 4, б) у крові впродовж 7 днів з початку госпіталізації з розвитком легкої (при поступленні в стаціонар) та середньої форм анемії в період з 3 доби до

родорозрішення (ступені анемії залежно від вмісту гемоглобіну: I – легка 110-90 г/л; II – середня 90-70 г/л; III – важка менше 70 г/л).

Наводяться гіпотези про взаємодію SARS-CoV-2 з еритроцитами, його вплив на гем і порфірин. Сьогодні розглядається 2 можливих шляхи взаємодії білків вірусу з гемоглобіном. Перший – пов’язаний з виходом гемоглобіну з еритроцита і його потраплянням у кровоплин. Це може відбуватися внаслідок гемолізу еритроцитів, наприклад – імунологічного. Під час гемолізу гемоглобін виходить з клітин і розчиняється в плазмі. У цей момент здатність гемоглобіну переносити кисень втрачається.

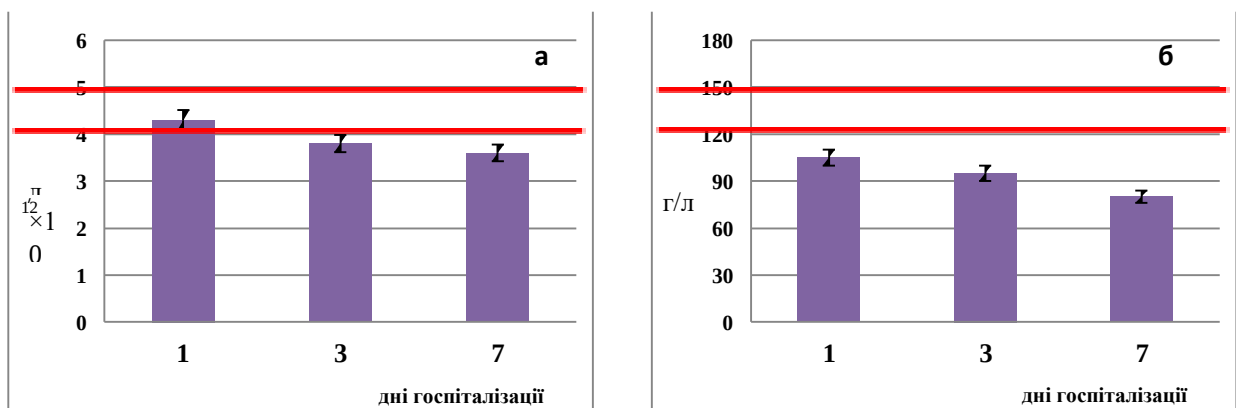


Рис. 4. Динаміка змін кількості еритроцитів (а) та концентрації гемоглобіну (б) у крові вагітних за умов розвитку коронавірусної інфекції

Гемоліз відбувається через розрив мембран еритроцитів і розчинення матриксу. Або може відбуватися розширення пор мембрани еритроцита до ступеня, що дозволяє гемоглобіну залишати клітину, залишаючи за собою дископодібну клітинну мембрану – «гематоцит». Імунний гемоліз – це специфічний гемоліз, викликаний реакцією «антиген-антитіло». Неспецифічний гемоліз викликається фізичними, хімічними або біологічними факторами.

Після гемолізу еритроцитів вірусні білки можуть атакувати гемоглобін.

Лю та Лі нещодавно продемонстрували за допомогою аналізу прогнозів біоінформатики, що SARS-CoV-2 може атакувати бета-ланцюг гемоглобіну. Вони також припускають, що продукт відкритої рамки зчитування 8 (ORF8) зв'язується з порфірином гему та витісняє залізо. Крім того, було показано, що CD147, поверхневий антиген еритроцитів, що визначає групу крові, є рецептором на еритроцитах, який забезпечує доступ вірусу COVID-19 до еритроцитів. Раніше CD147 причетний до сприяння цитоінвазії інших вірусів, включаючи ВІЛ, вірус кору, вірус SARS-CoV, декілька бактерій, таких як *Listeria monocytogenes* і навіть найпростіші, такі як *Plasmodium falciparum*, який викликає малярію [44].

Другий шлях передбачає проникнення вірусу або його білків через плазматичну мембрану в еритроцит і подальшу взаємодію білків вірусу з гемом і порфірином. Відзначається, що дезоксигемоглобін більш схильний до вірусних атак, ніж оксигенований гемоглобін – HbO_2 . Атакуюча дія вірусних білків викликає зменшення вмісту HbO_2 , що реалізує газообмін в організмі, і як наслідок – дихальну недостатність [45].

Автори припускають, що після проникнення в еритроцити вірусні білки зв'язують бета-ланцюги гемоглобіну, викликають зміну молекулярної конфігурації порфіринового кільця та знижують спорідненість гемоглобіну до O_2 . Це явище може призвести до помилкових показань насичення O_2 за допомогою пульсоксиметрії, подібно до сценарію отруєння чадним газом (CO). Наприклад, при отруєнні чадним газом молекула CO конкурує з O_2 на місцях зв'язування гемоглобіну. Він витісняє кисень з порфіринових кілець, але викликає зміну молекулярної конфігурації, подібну до оксигемоглобіну. Пульсоксиметр, який використовується в клінічній практиці, не вимірює безпосередньо кількість кисню, зв'язаного з гемоглобіном, скоріше він оцінює насичення O_2 шляхом вимірювання поглинання світла через добре

перфузований орган, такий як мочка вуха або палець. Оскільки зміни поглинання світла визначаються молекулярною конформацією молекули гемоглобіну, а інші фактори, окрім O_2 , можуть зв'язуватися з гемоглобіном і викликати подібні конформаційні зміни, пульсоксиметр може показувати помилково вищу насиченість. Як приклад, коли є 70 % карбоксигемоглобіну ($HbCO$) і фактичний O_2 насичення становить лише 30%, пульсоксиметр все ще вимірюватиме 90% насичення гемоглобіну киснем. Таким чином, якщо гемоглобін був пошкоджений або змінений якимось чином в результаті того, що вірусний білок зв'язує поліпептидні ланцюги молекули, може статися, що вимірювання SO_2 може не відображати справжньої картини зниження вмісту кисню в крові.

Автори припускають, що це може бути на ранній стадії захворювання до ураження легенів. Щодо того, чому цей знижений вміст кисню в крові не викликає задишки, це може бути пов'язано з фізіологічним механізмом периферичних хеморецепторів, як пояснюється нижче. На ранній стадії захворювання, до ураження легень, PO_2 , яка визначається розчиненим киснем, залишається нормальною. Давно відомо, що навіть після 50% заміни гемоглобіну карбоксигемоглобіном вентиляція не змінюється. Це пояснюється тим, що саме розчинений O_2 , а не загальний вміст кисню в крові, відчувається периферичними хеморецепторами. Таким чином, відчуття задишки не виникне, якщо насичення гемоглобіну було знижено через вірусну інфекцію.

Вірус може взаємодіяти не лише з судинними стінками, але й з мембранами еритроцитів у мікросудинах. Білки вірусу, які проникають у клітину, починають взаємодію з ланцюгом гемоглобіну $\beta 1$, при цьому винакає ефект екранування деякої кількості молекул Hb («screening effect»). Надходження кисню з еритроцитів у тканини через стінки капілярів меншується, а, відповідно, з альвеол у капіляри. Витік гемоглобіну в плазму

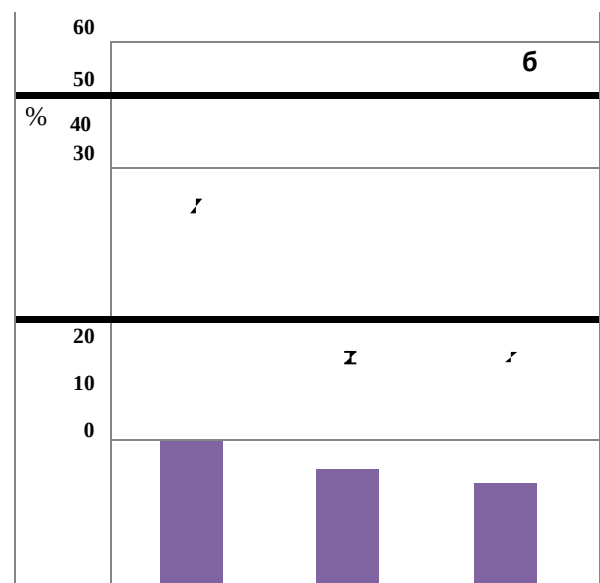
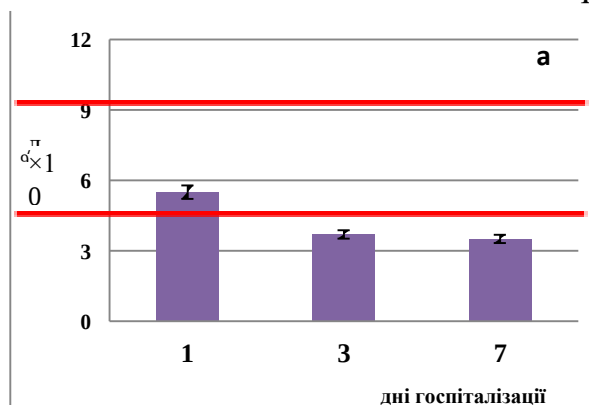
погіршує біологічну доступність оксиду азоту в судинах, викликаючи активацію тромбоцитів та ендотеліальну дисфункцію. Тому в хворих із коронавірусною інфекцією часто виявляють звуження судин, що супроводжується утворенням тромбів [45].

Отже, розвиток пневмонії на тлі коронавірусної інфекції у вагітних супроводжується зменшенням кількості еритроцитів (еритроцитопенія) та зниженням вмісту гемоглобіну з розвитком середньої форми анемії за умов прогресування захворювання.

Разом із тим у загальному аналізі крові 2/3 пацієнток із коронавірусною хворобою нетиповою ознакою виступає зниження кількості лейкоцитів (лейкопенія) та лімфоцитів (лімфопенія), а при бактеріальній інфекції, навпаки, лейкоцити часто високі, підвищуються нейтрофіли. У клініці це характеризують як зсув вліво лейкоцитарної формули, що супроводжується появою значної кількості паличкоядерних нейтрофілів.

У деяких дослідженнях повідомлялося, що лейкопенія становить від 28% до 68% залежно від важкості захворювання COVID-19

Так, нами відмічено незначне зниження кількості лейкоцитів (рис. 5, а) впродовж 1-7 днів перебігу пневмонії на тлі коронавірусної інфекції у крові вагітних з одночасним зменшенням рівня лімфоцитів (рис. 5, б).



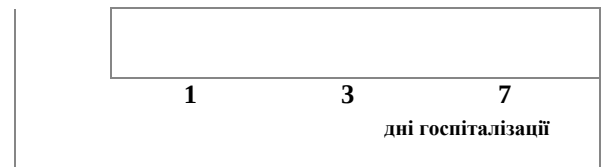


Рис. 5. Динаміка змін кількості лейкоцитів (а) та лімфоцитів (б) у крові вагітних за умов розвитку коронавірусної інфекції

За функціонування імунної системи відповідають лейкоцити. Наприклад, Т-лімфоцити, в основному, задіяні в боротьбі з вірусами та продукуванні антитіл за участю В-лімфоцитів. Лейкопенія спостерігається при будькій вірусній інфекції, оскільки за даних умов вірус бореться з імунною системою, тим самим вражаючи лімфоцити. Тоді сам вірус або за допомогою токсинів призводить до зменшення кількості лімфоцитів, щоб сприяти поширенню самого віруса.

Враховуючи те, що етіологія лімфоцитопенії за умов коронавірусу до кінця не вивчена, в літературі зазначені деякі фактори, які викликають даний стан. Відмічено, що лімфоцити на своїй поверхні також експресують ангіотензинперетворюючий фермент 2, тому SARS-CoV-2 може безпосередньо інфікувати ці клітини, що врешті-решт, приводить до їх лізису. В подальшому цитокінова буря характеризується істотно збільшеними рівнями інтерлейкінів (в основному це IL-2; IL-6; IL-7; MCP-1; MIP1-a; CXCL10; GM-CSF) і $\text{TNF}\alpha$, які можуть призводити до апоптозу лімфоцитів. Посилена активація вищезазначених цитокінів також може бути пов'язана з атрофією лімфоїдних органів, зокрема, селезінки, внаслідок чого знижується рівень циркулюючих лімфоцитів.

Лактоацидоз також може пригнічувати проліферацію лімфоцитів [46].

У літературі [47] зазначається, що у таких пацієнтів зменшується загальна кількість лімфоцитів, $TCDD4^+$, $TCDD8^+$, В-клітин і натуральних клітин-кілерів (NK-клітин), причому зниження $CD8^+$ Т-клітин є більш значним. Кілька досліджень показали, що поширеність лімфопенії становить від 40% до 91,6% у пацієнтів з COVID-19, і припустили, що лімфопенія може бути використана як прогностичний фактор щодо COVID-19. У дослідженні, проведеному Ве F. та його колегами, окрім спостереження за лімфопенією під час перебігу COVID19, вони продемонстрували, що 69 % пацієнтів із лімфопенією мали реактивні лімфоцити (лімфоплазмоцитоїд).

Дослідники також припускають, що SARS-CoV-2 і цитокіновий шторм, що виникає в результаті, можуть порушити функцію $TCDD4^+$ і Т-регуляторних клітин шляхом перевищення активації Т-цитотоксичних і спричиненої їх активацією загибелі клітин, що призводить до загострення захворювання.

Отже, зниження кількості лейкоцитів (лейкопенія) та лімфоцитів (лімфоцитопенія) в загальному аналізі крові вагітних із коронавірусною інфекцією можна розглядати як нетипову ознаку даного захворювання.

Важкі наслідки COVID-19 пов'язані із затримкою та перебільшеною вродженою імунною реакцією, включаючи гіперцитокінемію та запальну клітинну інфільтрацію в легенях. Встановлено, що пацієнти з COVID-19 помирають не від пошкоджень, спричинених реплікацією вірусу, а від наслідків так званого «цитокінового шторму». Намагаючись захистити організм від SARS-CoV-2, імунні клітини проникають у легені, викликаючи гіперактивацію моноцитів і макрофагів, а також посилене виробництво прозапальних цитокінів (наприклад, інтерлейкіну-6 (IL-6), інтерлейкіну- 1β (IL- 1β), фактора некрозу пухлини α (TNF- α) і хемокінів (наприклад, білок-1 хемоатрактанту моноцитів (MCP-1/CCL2)) [10]. Цитокіновий шторм також

пов'язаний з лімфопенією, і в дослідженні за участю 21 пацієнта з Уханя встановлено зниження $CD4^+$ і $CD8^+$ Т-клітин, а також пригнічення вироблення інтерферону γ $CD4^+$ Т-клітинами, що було пов'язано з тяжкістю COVID-19 [3].

Місцевий викид хемокінів і цитокінів приваблює більше запальних клітин, таких як нейтрофіли та моноцити, у легеневу тканину, що призводить до пошкодження легень. За іронією долі, цитокіновий шторм є результатом реакції імунної системи на інфекцію, намагаючись захистити господаря, але призводить до гострого респіраторного дистрес-синдрому та поліорганної недостатності [16].

Вважається, що підвищене продукування та підвищений локальний і системний IL-6 є ключовими факторами розвитку цитокінового шторму. Відповідно, терапевтичні стратегії, націлені на запальну відповідь, такі як блокада IL-6 або трансплантація мезенхімальних стовбурових клітин для відновлення імунної толерантності.

Нами відмічено підвищений рівень IL-6 в сироватці крові вагітних за умов розвитку пневмонії на тлі коронавірусної інфекції, починаючи з 3 доби госпіталізації й до періоду родорозрішення (рис. 6).

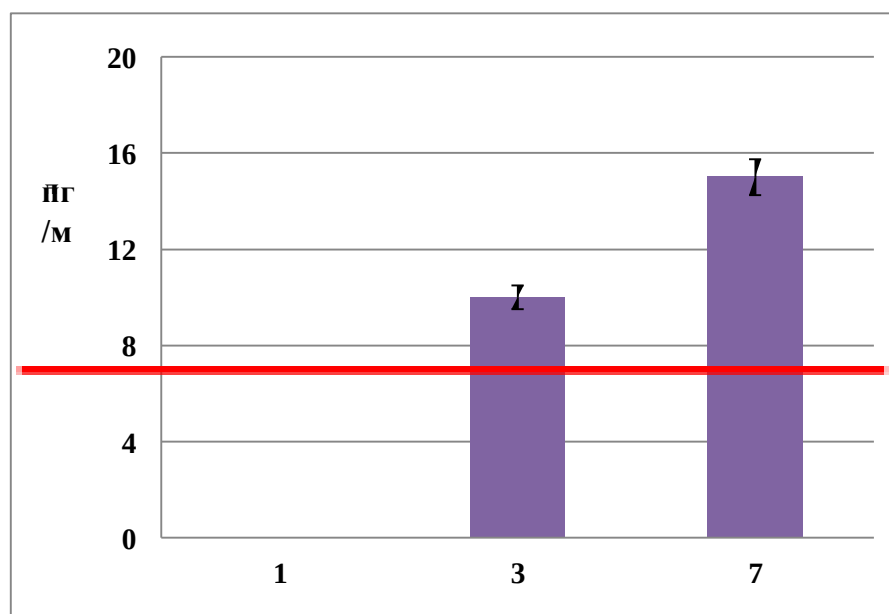


Рис. 6. Концентрація інтерлейкіну-6 в сироватці крові вагітних за умов розвитку коронавірусної інфекції Інтерлейкін-6 – прозапальний цитокін, що впливає на багато органів та систем організму: кров, печінку, імунну та ендокринну системи, обмін речовин. Він синтезується активованими моноцитами/макрофагами, фібробластами, ендотеліальними клітинами при запаленні, травмах, гіпоксії, бактеріальних інфекціях. Біологічна роль ІЛ-6, в першу чергу, полягає в індукції відновлювальних механізмів та активації імунного захисту (активація та диференціювання Т-клітин, дозрівання В-клітин, синтез С-реактивного білка в печінці, посилення гемопоезу). Надлишкова продукція інтерлейкіну-6 викликає пошкодження тканин внаслідок аутоімунної реакції.

Тимчасова продукція ІЛ-6 сприяє захисту організму від стресорних факторів навколишнього середовища, таких як інфекції та травми тканин. Коли джерело стресу перестає діяти, продукція інтерлейкіну-6 припиняється спеціалізованими регуляторними системами, що призводить до нормалізації рівнів сироваткових білків гострої фази [48].

У жінок зазвичай розвивається підвищена імунна відповідь порівняно з чоловіками. Butterworth та інші повідомили, що жінки виробляють більш високі рівні циркулюючих імуноглобулінів IgG та IgM, ніж чоловіки, що згодом було підтверджено кількома дослідженнями. Жінки також мають більш високу частоту CD4⁺ Т-хелперів, ніж чоловіки. Біологічні причини, через які жінки розвивають більш стійку імунну відповідь, ніж чоловіки, проти патогенів, включаючи віруси, ймовірно, пояснюють спостережуваний захист жінок від летальних наслідків COVID-19. По-перше, самки користуються генетичною перевагою 2 Х-хромосом і є мозаїкою Х-зчеплених генів (тобто

випадково експресують алелі, успадковані від матері чи батька), включаючи понад 60 генів імунної відповіді. Навпаки, чоловіки мають лише одну Ххромосому, успадковану від матері [10].

Одним із ключових біохімічних маркерів, що асоціюють з COVID-19, є підвищення вмісту С-реактивного протеїну в сироватці крові. Встановлено, що в 95 % пацієнтів із коронавірусною хворобою спостерігається зростання рівня С-реактивного білка як за умов важкої, так і легкої форм захворювання.

При дослідженнях хворих із COVID-19 зазначено, що вміст С-реактивного протеїну безпосередньо корелює із прогресуванням захворювання. Саме тому кількісне визначення СРБ вважається достовірним діагностичним маркером важкості, прогресування та наслідків захворювання. Наприклад, в одному з досліджень, яке було зосереджено на вивченні предикторів (маркерівпопередників) летальних наслідків при COVID-19, показано, середній рівень С-реактивного білка в тих пацієнтів, хто вижив, становив ~ 40 мг/л, тоді як у померлих – в середньому 125 мг/л [49].

Досить важливою перевагою С-реактивного білка у діагностиці вважається те, що він є раннім маркером розвитку запалення, що виникає при коронавірусній інфекції: його концентрація підвищується вже через 6-8 годин після зараження. Після проникнення вірусу SARS-CoV-2 в організм людини імунна відповідь запускається для боротьби з цим патогеном, що й супроводжується зростанням рівня С-реактивного білка. Інші маркери запалення, такі як кількість лейкоцитів в крові, мають недостатню прогностичну здатність розрізняти інфекції бактеріальної та вірусної природи [50].

З точки зору терапії COVID-19, С-реактивний білок відіграє роль основного лабораторного маркера активності процесу в легеневій тканині. За

ступенем підвищення С-реактивного протеїну можна визначити об'єм ураження легень і призначити необхідну протизапальну терапію.

Раннє підвищення С-реактивного білка понад 15 мг/л є маркером тяжкості захворювання, а рівні понад 200 мг/л при госпіталізації незалежно пов'язані з п'ятикратною ймовірністю смерті [51].

Як видно з рис. 7, рівень С-реактивного білка у вагітних з коронавірусною інфекцією в 1 день госпіталізації становив 12 мг/л, дещо підвищувався в динаміці на 3 день перебігу захворювання (30 мг/л) та (37 мг/л при нормі у 10 мг/л) в період підготовки до родорозрішення (7 день).

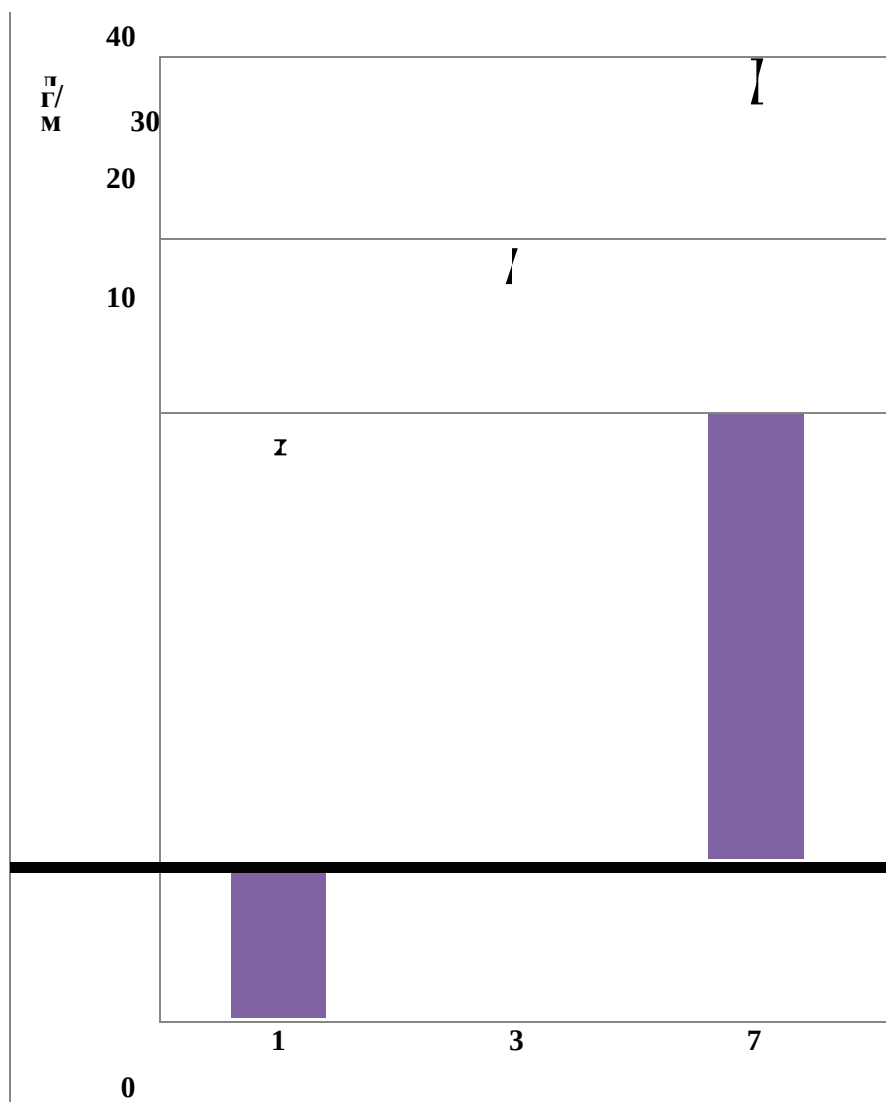


Рис. 7. Рівень С-реактивного білка у сироватці крові вагітних за умов розвитку коронавірусної інфекції

СРБ володіє властивостями, характерними для імуноглобулінів: зв'язується з бактеріальними полісахаридами і гліколіпідами, пошкодженими мембранами та експонованими ядерними антигенами. У структурі СРБ виділяють дві ділянки: одна специфічно зв'язується з іонами кальцію (необхідна для того, щоб білок зв'язував ліганди, зокрема, фосфатидилхолін). Інша ділянка СРБ відповідає за зв'язування рецепторів [52].

С-реактивний протеїн може підвищувати фагоцитоз певних антигенів та мікроорганізмів, прискорювати агрегацію тромбоцитів та секрецію серотоніну, стимулювати вивільнення інтерлейкінів, а також модулювати метаболізм арахідонової кислоти. СРБ є центральним компонентом гострої фази запального процесу, що зростає з одночасним підвищенням температури, зміною проникливості судин, протеїносинтетичного та метаболічного профілю багатьох органів. С-реактивний білок може зазнавати різних видів посттрасляційних модифікацій (наприклад, глікозилюванню), що відбуваються при різних патологіях. Не виключено, що модифіковані форми С-реактивного протеїну мають різне співвідношення при конкретних патологіях, а це, у свою чергу, може призвести до створення чутливіших і більш специфічних діагностичних тестів [50].

СРБ визначається в сироватці при різних запальних і некротичних процесах і є показником гострої фази їх перебігу. Така назва виникла через здатність преципітувати С-полісахарид клітинної стінки пневмокока. СРБ підсилює рухливу здатність лейкоцитів. Зв'язуючись з Т-лімфоцитами, він впливає на їх функціональну активність, ініціюючи реакції преципітації, аглютинації, фагоцитозу і зв'язування комплекменту.

Отже, підвищення концентрації інтерлейкіну-6 (до 15 пг/мл) при збільшенні рівня С-реактивного білка (до 40 мг/л) у вагітних із коронавірусною інфекцією можна розглядати як комплексний діагностичний

біомаркер ступеня тяжкості запалення та критерій оперативного родорозрішення чи передчасних пологів.

Варто відмітити, що маркером деструктивних змін в тканинах, індукованих гіпоксією при COVID-19, розглядають підвищення загальної лактатдегідрогеназної активності, що підтверджено результатами біохімічного обстеження крові вагітних із коронавірусною пневмонією (рис. 8).

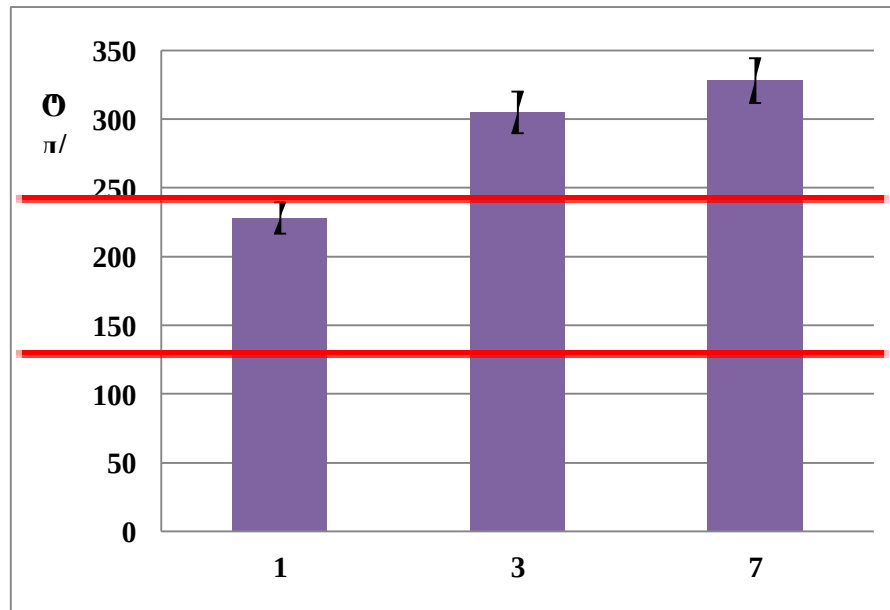


Рис. 8. Лактатдегідрогеназна активність у сироватці крові вагітних за умов розвитку коронавірусної інфекції Лактатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.27) – це внутрішньоклітинний ензим, який знаходиться в цитоплазмі всіх клітин організму, найбільше в скелетних і серцевому м'язах, еритроцитах, нирках та печінці, менше – в легенях, гладеньких м'язах і мозку. Активність ензиму у клітинах приблизно в 500 разів більша, ніж в сироватці крові. ЛДГ є неспецифічним показником тканинного ушкодження, активність його в крові підвищується при всіх станах, що супроводжуються збільшенням проникності клітинної мембрани.

Наприклад, при важкій формі коронавірусної інфекції SARS-CoV розвивається дифузне пошкодження альвеол. Порушується цілісність їх стінок, підвищується проникність альвеолярної мембрани, яка регулює водноелектролітний і газовий обмін. Альвеоли містять лейкоцити, еритроцити, продукти руйнування клітинних елементів, що клінічно відповідає розвитку набряку легенів [53].

Характерною особливістю в перші дні розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому є наявність еозинофільних гіалінових мембран і пошкодження альвеоцитів 1-го типу. Руйнування сурфактанту, що вистилає бронхіоли і альвеоли, призводить до їх зменшення, що ще більше порушує газообмін. Внаслідок цього розвиваються гіпоксія, респіраторний ацидоз і алкалоз, артеріальна гіпоксемія. Основний патогенетичний механізм розвитку гострого пошкодження легень полягає в потраплянні плазми і клітин крові в альвеоли і інтерстицій легень. Виникаюча запальна інфільтрація носить мультифокальний характер з тенденцією до злиття і в подальшому призводить до формування фіброзних рубців в легеневій тканині [54].

Таким чином, «у вагітних жінок з інфекцією SARS-CoV-2 можуть спостерігатися тяжчі симптоми порівняно з невагітними жінками. У деяких із них, проте не в усіх, спостерігалися супутні захворювання, такі як гіпертонія, діабет, холестаз вагітності. Також дослідники повідомили про випадки швидкого погіршення стану матері з діагнозом кардіоміопатії [13]. На жаль, ці швидко прогресуючі ускладнення приводили найчастіше до розродження шляхом кесаревого розтину.

Прееклампсія є досить поширеним ускладненням, пов'язаним із вагітністю, яке посилюється при COVID-19. Клінічна діагностика також ускладнюється через подібність лабораторних відхилень в обох станах. Тому складно відрізнити чим спричинені лабораторні порушення — інфекцією

SARS-CoV2 чи гестозом, відповідно лікувальні стратегії можуть бути помилковими. Наприклад, тромбоцитопенія і порушення функції печінки є діагностичними критеріями як прееклампсії, так і погіршення перебігу COVID-19.

Існують відмінності залежно від триместру вагітності. Імунологічно виділяють три стадії вагітності: у I триместрі спостерігається складний прозапальний ланцюг, що забезпечує трофобластичну інвазію; у II триместрі (від 13 до 27 тижнів) протизапальна відповідь необхідна для адекватного росту плода та для запобігання мимовільному початку пологів; у III триместрі стан повертається до стимуляції прозапальної відповіді для підготовки організму до пологів. Кожна з цих стадій потребує балансу, тому порушення його вірусними інфекціями може призводити до ускладнень стану вагітної або внутрішньоутробного росту плода. Теоретично, під час стадії запалення вагітні були б більш схильні до розвитку цитокінового шторму, що є показником тяжкості при SARS-CoV-2 [16].

Таким чином, підвищення лактатдегідрогеназної активності за умов розвитку вірусної інфекції засвідчує розвиток внутрішньоклітинної гіпоксії та може використовуватися для оцінки важкості та прогресування захворювання.

ВИСНОВКИ

1. Розвиток пневмонії на тлі коронавірусної інфекції у вагітних супроводжується зменшенням кількості еритроцитів (еритроцитопенія) та зниженням вмісту гемоглобіну з розвитком середньої форми анемії за умов прогресування захворювання.
2. У загальному аналізі крові зниження кількості лейкоцитів (лейкопенія) та лімфоцитів (лімфоцитопенія) можна розглядати як нетипову ознаку коронавірусної інфекції у вагітних.
3. Підвищення концентрації інтерлейкіну-6 (до 15 пг/мл) при збільшенні рівня С-реактивного білка (до 40 мг/л) у вагітних із коронавірусною інфекцією можна розглядати як комплексний діагностичний біомаркер ступеня тяжкості запалення та критерій оперативного родорозрішення чи передчасних пологів.
4. Підвищення лактатдегідрогеназної активності за умов розвитку вірусної пневмонії під час COVID-19 вказує на розвиток внутрішньоклітинної гіпоксії на тлі зниження рівня сатурації та може використовуватися для оцінки важкості та прогресування захворювання.
5. Вагітні жінки з COVID-19 мали абсолютне підвищення ризику госпіталізації до відділення інтенсивної терапії, передчасних пологів, кесаревого розтину та госпіталізації своїх новонароджених до неонатального відділення порівняно з вагітними жінками без COVID-19.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Farsimadan M., Motamedifar M. The effects of human immunodeficiency virus, human papillomavirus, herpes simplex virus-1 and -2, human herpesvirus-6 and -8, cytomegalovirus, and hepatitis B and C virus on female fertility and pregnancy. *Br J Biomed Sci.* 2021. V. 78(1). P. 1-11. doi: 10.1080/09674845.2020.1803540.
2. Cervantes O., Cruz Talavera I., Every E., Coler B., Li M., Li A., Li H., Adams Waldorf K. Role of hormones in the pregnancy and sex-specific outcomes to infections with respiratory viruses. *Immunol Rev.* 2022. V. 308(1). P. 123-148. doi: 10.1111/imr.13078.
3. Adamyan L.V., Vechorko V.I., Konysheva O.V., Kharchenko E.I. Pregnancy and COVID-19: current issues (literature review). *Problemy Reproduktsii.* 2021. V. 27(3). P. 70-77. doi.org/10.17116/repro20212703170.
4. Рябоконь О.В., Черкаський В.В., Рябоконь Ю.Ю. Коронавірусна хвороба у вагітних: сучасний стан питання. *Інфекційні хвороби.* 2021. Т. 1(103). С. 45-52. DOI 10.11603/1681-2727.2021.1.11950.
5. Vivanti A.J., Vauloup-Fellous C., Prevot S., Zupan V., Suffee C., Do Cao J., et al. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun.* 2020. V. 11. P. 3572.
6. World Health Organization. Definition and categorization of the timing of mother-to-child transmission of SARS-CoV-2 [cited 2021 Mar 2]. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-mother-to-childtransmission-2021.1>
7. Jafari M., Pormohammad A., Sheikh Neshin S.A., Ghorbani S., Bose D., Alimohammadi S., Basirjafari S., Mohammadi M., Rasmussen-Ivey C., Razizadeh M.H., Nouri-Vaskeh M., Zarei M. Clinical characteristics and outcomes of pregnant women with COVID-19 and comparison with control

- patients: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol.* 2021. V. 31(5). P. 1-16. doi: 10.1002/rmv.2208.
8. Wang C.L., Liu Y.Y., Wu C.H., Wang C.Y., Wang C.H., Long C.Y. Impact of COVID-19 on Pregnancy. *Int J Med Sci.* 2021. V. 18(3). P. 763-767. doi: 10.7150/ijms.49923.
 9. Juan J., Gil M.M., Rong Z., Zhang Y., Yang H., Poon L.C. Effect of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on maternal, perinatal and neonatal outcome: systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020. V. 56(1). P. 15-27. doi: 10.1002/uog.22088.
 10. Mauvais-Jarvis F., Klein S.L., Levin E.R. Estradiol, Progesterone, Immunomodulation, and COVID-19 Outcomes. *Endocrinology.* 2020. V. 161(9):bqaa127. doi: 10.1210/endocr/bqaa127.
 11. Prochaska E., Jang M., Burd I. COVID-19 in pregnancy: Placental and neonatal involvement. *Am J Reprod Immunol.* 2020. V. 84(5):e13306. doi: 10.1111/aji.13306.
 12. Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in china: summary of a report of 72 314 cases from the chinese center for disease control and prevention. *JAMA.* 2020. V. 323(13). P. 1239-1242. doi: 10.1001/jama.2020.2648.
 13. Elrashdy F., Redwan E.M., Uversky V.N. Why COVID-19 transmission is more efficient and aggressive than viral transmission in previous coronavirus epidemics? *Biomolecules.* 2020. V. 10(9):1312. doi: 10.3390/biom10091312.
 14. Боророва О.Л. Коронавірусна інфекція: види, клінічні особливості, шляхи профілактики. *Астма та алергія.* 2021. № 1. С. 49-57.

15. Shang J., Ye G., Shi K.E. et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV 2. *Nature*. 2020. V. 581(7807): 221–224. 10.1038/s41586-0202179-y.
16. Іщенко Г.І. COVID19 під час вагітності. Аналітичний огляд. *Перинатологія і неонатологія*. 2021. Т. 1(85). С. 75-80.
17. Ye Q., Wang B., Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine storm' in COVID 19. *J Infect*. 2020. V. 80(6). P. 607-613. 10.1016/j.jinf.2020.03.037.
18. Yan J., Guo J., Fan C., Juan J., Yu X., Li J., Feng L., Li C., Chen H., Qiao Y., Lei D., Wang C., Xiong G., Xiao F., He W., Pang Q., Hu X., Wang S., Chen D., Zhang Y., Poon L.C., Yang H. Coronavirus disease 2019 in pregnant women: a report based on 116 cases. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 2020. V. 223(1). P. 111-114.
19. Favre G., Pomar L., Qi X., Nielsen-Saines K., Musso D., Baud D. Guidelines for pregnant women with suspected SARS-CoV-2 infection. *Lancet Infect. Dis*. 2020. V. 20(6). P. 652-653.
20. Fuentes-Zacarías P., Murrieta-Coxca J.M., Gutiérrez-Samudio R.N., Schmidt A., Schmidt A., Markert U.R., Morales-Prieto D.M. Pregnancy and pandemics: Interaction of viral surface proteins and placenta cells. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2021 V. 1867(11): 166218. doi: 10.1016/j.bbadis.2021.166218.
21. Kotlyar A.M., Grechukhina O., Chen A., Popkhadze S., Grimshaw A., Tal O., Taylor H.S., Tal R. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 2021. V. 224(1). P. 35–53.
22. Blumberg D.A., Underwood M.A., Hedriana H.L., Lakshminrusimha S. Vertical transmission of SARS-CoV 2: What is the optimal definition? *Am J Perinatol*. 2020. V. 37(08). P. 769-772. 10.1055/s-0040-1712457/

23. Wastnedge E.A., Reynolds R.M., van Boeckel S.R., Stock S.J., Denison F.C., Maybin J.A., Critchley H.O. Pregnancy and COVID-19. *Physiological Reviews*. 2021. V. 101(1). P. 303-318.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2020>
24. Костюк О.О., Шунько Є.Є. Мама та дитина в умовах світової пандемії коронавірусної інфекції. Нові виклики для системи охорони здоров'я. *Ukrainian Journal of Perinatology and Pediatrics*. Т. 2(82). С. 17–26. doi 10.15574/PP.2020.82.17.
25. Hsu A.L., Guan M., Johannesen E., Stephens A.J., Khaleel N., Kagan N., Tuhlei B.C., Wan X.F. Placental SARS-CoV-2 in a pregnant woman with mild COVID-19 disease. *J Med Virol*. 2021. V. 93(2). P. 1038-1044. doi: 10.1002/jmv.26386.
26. Vivanti A.J., Vauloup-Fellous C., Prevot S., Zupan V., Suffee C., Do Cao J., Benachi A., De Luca D. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun*. 2020. V. 11(1):3572. doi: 10.1038/s41467-02017436-6.
27. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020. V. 181(2):271-280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
28. Настанова Королівського коледжу акушерів та гінекологів Великобританії «Інфекція коронавірусу (COVID-19) під час вагітності». Електронний ресурс: https://anest.vn.ua/file/COVID-19_pregnancy.pdf
29. Lü M., Qiu L., Jia G., Guo R., Leng Q. Single-cell expression profiles of ACE2 and TMPRSS2 reveals potential vertical transmission and fetus infection of SARS-CoV-2. *Aging (Albany NY)*. 2020. V. 12(20). P. 1988019897. doi: 10.18632/aging.104015.

30. Male V. SARS-CoV-2 infection and COVID-19 vaccination in pregnancy. *Nat Rev Immunol*. 2022. V. 22(5). P. 277-282. doi: 10.1038/s41577-02200703-6.
31. Dallas County Health and Human Services. 2019 novel coronavirus (COVID-19) summary.
https://www.dallascounty.org/Assets/uploads/docs/hhs/2019_nCoV/COVID-19%20DCHHS%20Summary_062320.pdf.
32. Allotey J., Stallings E., Bonet M., Yap M., Chatterjee S., Kew T., Debenham L., Llavall A.C., Dixit A., Zhou D., Balaji R., Lee S.I., Qiu X., Yuan M., Coomar D., Sheikh J., Lawson H., Ansari K., van Wely M., van Leeuwen E., Kostova E., Kunst H., Khalil A., Tiberi S., Brizuela V., Broutet N., Kara E., Kim C.R., Thorson A., Oladapo O.T., Mofenson L., Zamora J., Thangaratinam S. Clinical manifestations, risk factors, and maternal and perinatal outcomes of coronavirus disease 2019 in pregnancy: living systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020. V. 370:m3320. doi: 10.1136/bmj.m3320.
33. Chi J., Gong W., Gao Q. Clinical characteristics and outcomes of pregnant women with COVID-19 and the risk of vertical transmission: a systematic review. *Arch Gynecol Obstet*. 2021. V. 303(2). P. 337-345. doi: 10.1007/s00404-020-05889-5.
34. Patanè L., Morotti D., Giunta M.R. et al. Vertical transmission of COVID-19: SARS-CoV-2 RNA on the fetal side of the placenta in pregnancies with COVID-19 positive mothers and neonates at birth. *Am J Obstetr Gynecol MFM*. 2020. V. 10.1016/j.ajogmf.2020.100145/
35. Eloundou S.N., Lee Ji.Yeon., Wu D. Placental malperfusion in response to intrauterine inflammation and its connection to fetal sequelae. *PLoS One*. 2019. V. 14(4). P. 10.1371/journal.pone.0214951.

36. Клінічний протокол діагностики та лікування коронавірусної інфекції COVID 19. Електронний ресурс: https://healthcenter.od.ua/wpcontent/uploads/2020/04/protokol-likuvannya-covid-19-02.04.2020r._updated.pdf
37. Переваги ПЛР тесту на COVID-19 перед іншими методами досліджень. Електронний ресурс: http://sm.zp.ua/p_327.html.
38. Статистичні методи в біології: підруч. для студентів ВНЗ / Ю.І. Прилуцький, О.В. Ільченко, О.В. Цимбалюк, С.О. Костерін; НАН України. Ін-т біохімії ім. О. В. Палладіна ; ред. Н.А. Серебрякова. Київ: Наукова думка, 2017. 211 с.
39. Інструкція до набору для визначення концентрації С-реактивного білка-Ново (латекс). Електронний ресурс: <https://vectorbest.kiev.ua/drupalcon/uploads/2020/08/crp-novo-lateks.pdf>
40. Інструкція з використання. Інтерлейкін-6 ІФА. Електронний ресурс: <https://novamedline.com/downloads/instructions/ua/IL%20E-3200.pdf>
41. Sarapultsev A., Sarapultsev P. Immunological environment shifts during pregnancy may affect the risk of developing severe complications in COVID-19 patients. *Am J Reprod Immunol*. 2020. 10.1111/aji.13285.
42. Дони́на Ж.А. Причины гипоксемии при COVID-19. *Физиологический журнал*. 2022. Т. 108. № 1. С. 3–12.
43. Пилипенко М.Н., Хоменко О.Ю. Патофізіологія гіпоксемії та задишки при тяжких пневмоніях. *Український пульмонологічний журнал*. 2020. № 2. С. 19-26.
44. Лю В., Ли Х. COVID-19: атакує 1-бета-цепь гемоглобіна и захватывает порфирин, чтобы ингибировать метаболизм человеческого гема. 2020. Електронний ресурс: <https://logrusglobal.ru/c19/C19-Transmission-7.html>.

45. Shakoori T.A., Hafeez M.M., Malik A. Could COVID-19 be a hemoglobinopathy? *Acta Clin Croat.* 2020. V. 59(4). P. 740-744. doi: 10.20471/acc.2020.59.04.21.
46. Karimi Shahri M., Niazkar H.R., Rad F. COVID-19 and hematology findings based on the current evidences: A puzzle with many missing pieces. *Int J Lab Hematol.* 2021. V. 43(2). P. 160-168. doi: 10.1111/ijlh.13412.
47. Zhao Q., Meng M., Kumar R. et al. Lymphopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a systemic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020. V. 96. P. 131-135
10.1016/j.ijid.2020.04.086.
48. Хиць А.Р. COVID-19: патогенез цитокінового вибуху і можливості терапії. *Український медичний часопис.* 2022. V. 4 (150). Електронний ресурс: <https://www.umj.com.ua/article/178526/covid-19-patogeneztsitokinovogo-vibuhu-i-mozhливosti-terapiyi>
49. Tan C., Huang Y., Shi F. C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early. *J. Med. Virol.* 2020. V. 92 (7). P. 856–862.
50. Чикина С.Ю., Бровко М.Ю., Роюк В.В., Авдеев С.Н. Нетипичное течение новой коронавирусной инфекции COVID19 с поздним повышением уровня С-реактивного белка (клинические наблюдения). *Пульмонология.* 2020. Т. 30(5). С. 709–714.
51. Haitao T., Vermunt J.V., Abeykoon J., Ghamrawi R., Gunaratne M., Jayachandran M., Narang K., Parashuram S., Suvakov S., Garovic V.D. COVID-19 and Sex Differences: Mechanisms and Biomarkers. *Mayo Clin Proc.* 2020. V. 95(10). P. 2189-2203. doi: 10.1016/j.mayocp.2020.07.024.

52. Вельков В.В. С-реактивный белок – структура, функция, методы определения, клиническая значимость. *Лабораторная медицина*. 2006. № 8. С. 1–7.
53. Мельник А.А. Невирусологические лабораторные маркеры в контексте COVID-19. Электронный ресурс: <https://health-ua.com/article/61888nevirusologicheskie-laboratornye-markery--vkontekste-COVID19>.
54. Henry B.M., Aggarwal G., Wong J., Benoit S., Vikse J., Plebani M., Lippi G. Lactate dehydrogenase levels predict coronavirus disease 2019 (COVID-19) severity and mortality: A pooled analysis. *Am J Emerg Med*. 2020. V. 38(9):1722-1726. doi: 10.1016/j.ajem.2020.05.073.

ДОДАТКИ

Охорона праці та безпека у надзвичайних ситуаціях

Вимоги до обладнання

1.1. Лабораторія повинна мати обладнання та засоби вимірювальної техніки(ЗВТ), що необхідні для проведення досліджень. На кожну одиницю обладнання, що використовується, має бути паспорт підприємства виробника: розроблена, затверджена керівником установи та вивішена на робочому місці інструкція з експлуатації, з урахування вимог біохімічної безпеки.

1.2. Обладнання та ЗВТ повинні відповідати вимогам нормативних документів на методи досліджень, що проводить лабораторія і утримуватися в умовах, що забезпечують їх зберігання, захист від пошкоджень та передчасного зношування.

1.3. На обладнання, що потребує періодичного технічного обслуговування, повинні бути затверджені графіки технічного обслуговування, а для ЗВТ - графіки повірки.

1.4. Апаратуру, меблі та обладнання розміщують таким чином, щоб забезпечити найбільшу зручність у роботі, простоту використання, чищення, знезараження, контролю і найменші затрати часу на переходи.

1.5. Столи, на яких проводяться мікроскопічні дослідження при денному освітленні, повинні розміщуватись біля вікон.

1.6. Лабораторні меблі повинні бути з пластиковим покриттям або пофарбовані олійною (емалевою) фарбою світлих тонів. Лабораторні стільці повинні мати гігієнічне покриття, що добре миється. Внутрішні та зовнішні поверхні меблів повинні бути гладкими, без щілин та пазів, що утруднюють обробку знезаражуючими речовинами.

1.7. Робочі поверхні столів повинні бути із водонепроникного, кислотолужностійкого, незгораючого матеріалу, який не псується від обробки вогнем та дезінфікуючими розчинами. Стандартна ширина робочої поверхні 76 см.

1.8. Обладнання лабораторії повинно бути таким, щоб попередити (обмежити) контакт між працюючим та інфекційним агентом, виготовлене з матеріалів непроникних для рідин, стійких до корозії, міцним, не мати гострих країв, шорсткості, не закріплених деталей.

1.9. Газові пальники повинні утримуватися в чистоті та порядку, для чого їх періодично розбирають і чистять; мати справні крани і м'які з'єднуючі шланги, що не допускають проникнення газу до приміщення.

1.10. Центрифугу розміщують так, щоб працівник був в змозі бачити і правильно розміщувати на її дні стакани.

1.11. Термостати і термостатні кімнати дезінфікують не рідше одного разу на місяць. Обробку їх здійснюють тільки при вимкненні із мережі. При експлуатації термостата персоналу лабораторії забороняється:

- ставити в термостат легкозаймисті речовини;
- самостійно знімати запобіжні ковпаки з регулюючого обладнання.

1.12. При зберіганні в холодильниках заразного матеріалу необхідно вживати заходи для попередження його забруднення. Розморожування рефрижератора, що передбачене правилами експлуатації, об'єднують з його дезінфекцією.

1.13. Всі контейнери, що зберігаються в холодильнику (рефрижераторі), повинні мати чіткі етикетки із зазначенням матеріалу, що зберігається.

1.14. Контроль температурного режиму в термостатах і холодильниках проводиться щоденно з відміткою у відповідних формах.

Вимоги до зберігання витратних матеріалів

2.1. Зберігання хімічних реактивів здійснюють згідно методичних вказівок та цих правил в спеціальних приміщеннях, що мають опалення, вентиляцію, штучне освітлення.

2.2. Температура повітря в приміщенні для зберігання реактивів повинна бути від 8 до 20°C, відносна вологість 60-70%.

2.3. В приміщенні для збереження хімічних речовин повинен бути ящик з сухим піском, вода і аварійні розчини для нейтралізації кислот та лугів.

2.4. Реактиви зберігаються на стелажах або в шафах. Доступ до них дозволяється тільки особам, які відповідають за їх облік і зберігання.

2.5. Реактиви розміщують за групами: неорганічні за катіонами, органічні за класами – вуглеводи, галогенопохідні, спирти, кетони, тощо. Кислоти та луги зберігають окремо. Над кожним класом реактивів повинен бути напис.

2.6. Хімічні реактиви, що постійно використовуються, дозволяється зберігати в спеціальних шафах в приміщенні лабораторії в мінімальному асортименті і кількості. Необхідно мати список таких реактивів.

2.7. Термочутливі реактиви зберігають у прохолодному, темному приміщенні, поодаль від приладів опалення, при температурі нижче критичної, при якій реактив розкладається.

2.9. Забороняється зберігати в лабораторії:

- будь-які речовини без етикеток;
- вибухо- та вогнебезпечні реактиви разом із сильно отруйними;
- спільно або в безпосередній близькості речовини, що можуть впливати одна на одну і викликати, внаслідок хімічної взаємодії, пожежу або вибух (наприклад, азотна кислота і будь-яка органічна речовина);
- запаси отруйних, сильнодіючих вибухонебезпечних речовин і розчинів на робочих столах.

2.10. Діагностичні ІБП (сироватки, діагностикуми, тощо), які з різних причин не підлягають використанню, прирівнюють до культур мікроорганізмів і знешкоджують шляхом автоклавування під тиском в 0,2 МПа (2 атм.) протягом 1 години.

Вимоги безпеки при виконанні робіт в лабораторіях

3.1. Кожен працівник лабораторії повинен мати закріплене за ним робоче місце. 3.2. В спецодязі забороняється знаходитись за межами лабораторних приміщень (адміністративні, побутові приміщення, тощо).

3.3. При роботі зі скляними приладами необхідно:

- захищати руки рушником при зборі скляних приладів або з'єднанні окремих частин їх за допомогою каучуку або гуми;
- при закриванні колби, пробірки або іншої тонкостінної посудини пробкою, тримати посудину за верхню частину шийки ближче до місця, куди повинна бути вставлена пробка, захищаючи руку рушником;

3.4. Нагріту посудину не можна закривати притертою пробкою поки вона не охолоне.

3.5. При закупорюванні пробками посудин із реактивами враховують їх властивості. Гумові пробки сильно набухають під дією деяких реактивів (спирт, бензол, ацетон, ефір), а під дією галогенів (бром, йод) втрачають еластичність. Такі реактиви краще закупорювати скляними притертими пробками. Луг не можна закупорювати притертою пробкою, тому що карбонати, що утворюються між пробкою і горлом, щільно заклинюють пробку.

3.6. При переливанні рідин (крім тих, що містять біологічний матеріал) користуються лійкою.

3.7. При змішуванні (розведенні) речовин, що супроводжуються виділенням тепла, користуються термостійким хімічним посудом.

3.8. При роботі з легкозаймистими речовинами (ефір, бензин, бензол, ацетон, спирт і ін.) дотримуються таких вимог:

- усі роботи проводяться у витяжній шафі при включеній вентиляції, вимкнених газових пальниках і нагрівальних електроприладах відкритого типу;
- нагрівання легкозаймистих речовин проводять у витяжній шафі на піщаній або водяній бані з закритим електронагрівом.