

ЛІТЕРАТУРА

1. Амерханова А.М. Научно-производственная разработка новых препаратов — синбиотиков. Клинико-лабораторная оценка их эффективности: Автореферат диссертации д-ра биол. наук: 03.00.07. НИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. — М., 2009. — 47 с.
2. Блохина И.Н. Подходы к классификации бифидобактерий на основе данных о структуре их ДНК / И.Н. Блохина, Г.Р. Леванова, А.Ю. Лихачева // Мол. генетика, микробиолог., вирусол. — 1995. — № 4. — С. 27–29.
3. Григорьев А.В. Желудочно-кишечный тракт как среда обитания бактерий. Раздел 1. Морфология желудочно-кишечного бактериального биотопа. Пособие для врачей и научных работников. — Москва: Силма, 2004. — 123 с.
4. Лясковский Т.М. Оценка пробиотиков, согласно рекомендациям международных организаций (FAO/WHO) / Т.М. Лясковский, В.С. Подгорский // Микробиол. журн. — 2005. — Т. 67, № 6. — С. 104–112.
5. Полтавська О.А. Біологічні властивості біфідобактерій, ізольованих з різних природних джерел. Автореферат канд. біол. наук: 03.00.07. НАН України. Ін-т мікроб. вірус. ім. Д.К. Заболотного. — Київ, 2006. — 20 с.
6. Чупринина Р.П. Доклиническая оценка безопасности (безвредности) производственных штаммов и лекарственной формы пробиотиков / Р.П. Чупринина, И.Г. Осипова, В.Ф. Евлашкина, А.В. Ладыгина // Вакцинология 2006. Совершенствование иммунологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней: Тезисы Всероссийской научно-практической конференции. — Москва. — 2006. — С. 105.
7. Beigton David. Isolation and identification of Bifidobacteriaceae from human saliva / D. Beigton, S.C. Gilbert, D. Clark [et al.] // Applied and Environmental Microbiology — 2008. — Vol. 74, № 20. — P. 6457–6460.
8. Kaufman P. Identification and quantification of bi-fidobacterium species isolated from food with genus-specific 16S rRNA-targeted probes by colony hybridization and PCR / P. Kaufman, A. Pfefferkorn, M. Teuber [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 1997. — Vol. 63. № 4. — P. 1268–1273.
9. Matsuki T. Development of 16S rRNA-gene-targeted group specific primers for the detection and identification of predominant bacteria in human feces / T. Matsuki, K. Watanabe, J. Fujimoto [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 2002. — Vol. 68, № 5. — P. 5445–5451.
10. Matsuki T. Distribution of bifidobacterial species in human intestinal microflora examined with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers / T. Matsuki, K. Watanabe, R. Tanaka [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 1999. — Vol. 65, № 10. — P. 4506–4512.
11. Satokari Reetta M. Molecular approaches for the Detection and Identification of bifidobacteria and lactobacilli in the human gastrointestinal tract / R.M. Satokari, E.E. Vaughan, H. Smidt [et al.] // Systematic and applied microbiology. — 2003. — Vol. 26 (4). — P. 572–584.
12. Turroni Francesca Exploring the diversity of the Bifidobacterial population in the human intestinal tract / F. Turroni, E. Foroni, P. Pizzetti [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. — 2009. — Vol. 75, № 6. — P. 1534–1545.

ПОДТВЕРЖДЕНИЕ РОДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ БИФИДОБАКТЕРИЙ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

С.М. Григорьева, Е.В. Мурашко

В работе особое внимание уделено возможности идентификации микроорганизмов рода *Bifidobacterium* с

помощью полимеразной цепной реакции. Использование современных методов молекулярно генетического анализа повысит безопасность препаратов-пробиотиков, биологически активных добавок и продуктов питания, обогащенных нормофлорой, а также исключит возможную фальсификацию стартовых культур, тем самым защищая права разработчиков в случае их несанкционированного использования.

CONFIRMATION OF FAMILY BELONGING OF BIFIDOBACTERIA BY METHOD OF POLYMERASE CHAIN REACTION

S.M. Grygoryeva, E.V. Murashko

In work the special attention is given possibility of identification of microorganisms of genus *Bifidobacterium* by polymerase chain reaction. Use of modern methods of the molecular-genetic analysis will raise safety of preparations-probiotics, BAS and the foodstuff enriched normal microbiota, and also will exclude possible falsification of starting cultures, thereby protecting the rights of developers in case of their unapproved use.

УДК 616.988: 616-006.52-076/.078:575.191:611-018.1

О.В. Ковалюк, І.В. Дзюблик,
І.Г. Костенко, О.А. Олійник,
Н.М. Жеребко, Г.П. Артемчук

НОВІ АСПЕКТИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПАПІЛОМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, м. Київ

Рак шийки матки (РШМ) посідає друге місце після раку молочної залози серед злоякісних пухлин репродуктивної системи жінок і являє собою серйозну загрозу життю та здоров'ю жіночого населення. У світі щороку інвазійний РШМ вперше діагностується у майже 500 тисяч жінок, 273 тисяч помирають від цього захворювання, причому 3/4 — в країнах, що розвиваються [4, 9, 10].

В Україні щороку від РШМ помирають понад 2 тис. осіб, з них 700 — жінки репродуктивного віку. Актуальності проблемі додає не лише високий показник захворюваності, але й випадки пізно діагностованого раку та захворювання молодих і неповнолітніх пацієнток. Кожна п'ята жінка в Україні помирає протягом першого року після встановлення діагнозу РШМ. Крім того, в Україні збільшується превалентність інфекцій, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), які потенціюють онкогенний вплив вірусу папіло-

ми людини (ВПЛ) та прискорюють перехід від передракового стану епітелію шийки матки до раку [4].

Численними дослідженнями доведена етіологічна роль ВПЛ у розвитку РШМ [3, 9, 10]. Різноманітні типи ВПЛ були виявлені в 99,7% біоптатів, забраних у хворих на РШМ [16]. ВПЛ — це прості, ДНК-вмісні віруси розміром 50–55 нм, що входять до родини *Papillomaviridae*. Високоонкогенними для людини вірусами родини *Papillomaviridae* родів *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus* і *Gamma papillomavirus* є типи: 2, 5, 8, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, що спричинюють карциноми, інвазійний рак шийки матки, дисплазію шийки матки. Решта папіломавірусів — понад 170 типів — спричинюють у людини утворення доброякісних бородавок, папілом, кондилом різної локалізації.

Всі ВПЛ мають геном, представлений кільцевою двонитковою суперспіралізованою ДНК. До складу оболонки вірусу входять 2 білки (L1, L2), що відіграють важливу роль в процесі інфікування клітин людини. Початок реплікації ВПЛ визначається вже через 12 годин після інфікування клітин. Після зараження ВПЛ посилює проліферацію клітин, викликаючи розростання епітелію та появу новоутворень (продуктивна стадія). Час, що минає від моменту первинного інфікування до стадії клінічних проявів, варіабельний та визначається, головним чином, титром вірусу. Низький титр, як правило, призводить до формування латентної інфекції [3, 10].

Для папіломавірусної інфекції (ПВІ) характерні такі форми перебігу: клінічна, субклінічна та латентна. Субклінічна форма є асимптоматичною внутрішньоепітеліальною неоплазією на початкових (ранніх) стадіях. Для неї характерні такі явища як койлоцитоз, дискератоз за відсутності ознак пласкоклітинного інтраепітеліального ураження, в той час як для латентної форми ПВІ характерна відсутність клінічних, морфологічних або цитологічних відхилень. В останні роки клінічними дослідженнями встановлено збільшення питомої ваги хворих на РШМ III–IV стадій, яка коливається від 47,3% до 39,1%. Відомо, що від розповсюдженості пухлинного процесу залежить 5-річне виживання хворих на РШМ. Так, у хворих на РШМ I-ї стадії воно становить 78,1%, II-ї стадії — 57%, III-ї стадії — 31%, у разі IV-ї стадії воно зменшується до 7,8%. Наведені дані свідчать про суттєве значення ранньої діагностики РШМ і необхідність своєчасного

розпізнавання та коректного лікування передракових процесів шийки матки. Це пов'язано з тим, що в преінвазійній і в мікроінвазійній стадіях РШМ має локальний характер і після видалення пухлини в таких випадках відбувається не тільки повне одужання, але й відновлюється репродуктивна, психоемоційна і соціальна складові (реабілітація) [1, 7, 8]. Класичною схемою виявлення онкопатології шийки матки є цитологічне дослідження (Pap-тест) і для підтвердження позитивного результату використовують кольпоскопічне та гістологічне дослідження.

Цитологічний метод є одним з основних в діагностиці злоякісних процесів жіночих статевих органів. Він є простим і відносно дешевим, але достатньо інформативним при правильному його проведенні, тому цей метод сьогодні в Україні у зв'язку з економічними обставинами широко застосовується. Недоліком цього методу є неможливість оцінки глибини та поширеності патологічного процесу, встановити глибину інфільтративного росту карциноми (внаслідок відсутності в дослідженому матеріалі тканинного субстрату), можливість діагностики тільки субклінічних та клінічних форм ПВІ [2, 6]. Метод неспецифічний по відношенню до інфекції, викликаной ВПЛ високого онкоризику та виявляє випадки легкої дисплазії, нерідко пов'язані з низькоонкогенними вірусами. Значною проблемою проведення цитологічного дослідження є висока частота отримання хибних результатів, третина з яких зумовлена помилковою інтерпретацією, а дві третини — недостатньою кількістю отриманих мазків і поганою якістю їх презентації, неякісно виконаною мікроскопією, порушенням умов транспортування матеріалу. За даними літературних джерел, чутливість цього методу виявлення передракових станів та раку знаходиться в межах 60–70%, та особливо недосконала в країнах, в яких не стандартизована методика цитологічного дослідження. Відтворюваність цитологічного методу становить 11–80% в залежності від рівня кваліфікації персоналу та технічного оснащення лабораторії. Крім того, цитологічне дослідження дозволяє виявити патологію, але не дає можливості спрогнозувати розвиток цервікальної неоплазії у конкретної пацієнтки. Разом з тим, для ідентифікації раку та предраку шийки матки основним методом скринінгу все ще залишається цитологічний метод дослідження [5, 6, 14, 18]. За даними літератури, додаткові скринінгові методи також

мають низку недоліків: біля 50% результатів кольпоскопії можуть бути хибнопозитивними, до 15% результатів гістологічного дослідження біологічного матеріалу можуть бути хибнонегативними.

За останні роки значне місце в діагностиці ПВІ займають молекулярно-біологічні методи, направлені на виявлення геномної ДНК ВПЛ в клінічному матеріалі — це неампліфікаційні (дот-блот, саузерн-блот гібридизація, гібридизація *in situ*), ампліфікаційні (полімеразно-ланцюгова реакція — ПЛР, лігазна ланцюгова реакція), сигнальні ампліфікаційні (система гібридної пастки — “Digene Hybrid Capture System II”) методики.

Метою даної роботи було визначення ролі ПЛР у комплексній лабораторній діагностиці папіломавірусної інфекції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для виконання роботи було зібрано 4069 проб клінічного матеріалу за 2010 рік. Категорію обстежених склали жінки у віці від 17 до 68 років, а саме: 17–30 років — 1859 осіб; 31–40 років — 1500 осіб; 41–50 років — 228 осіб; 51–60 років — 322 особи; 61 рік і старше — 160 осіб.

Анамнестичні дані щодо направлення пацієнток на ВПЛ-тестування були систематизовані в такі групи: після профілактичного огляду лікарем-гінекологом; після звернення до лікаря-гінеколога (беручи до уваги анамнестичні дані пацієнта, враховуючи епідеміологічну ситуацію відносно ІПСШ/ПВІ та зі скаргами, щодо ІПСШ); після проведення цитологічного дослідження; після проведення кольпоскопії для підтвердження етіології захворювання.

Матеріал для дослідження — зішкреб епітелію цервікального каналу (ендоцервікс) та/або зішкреб епітелію з поверхні шийки матки (екзоцервікс) — відбирали за допомогою цервікальної цитощітки. Перед відбором матеріалу видаляли слиз і виділення піхви з поверхні шийки матки стерильним марлевим тампоном, вводили робочу частину цитощітки в цервікальний канал і робили два-три повні оберти. Робочу частину цитощітку із забраним матеріалом, поміщали в пробірку з транспортним середовищем з муколітиком (“ТСМ” торгової марки “Амплісенс”) об’ємом 2 мл.

Проби доставлялись з дотриманням протиепідемічних вимог та температурних умов зберігання, вказаних в інструкції виробника.

Перед проведенням процедури екстракції нуклеїнових кислот ретельно перемішували вміст пробірки на вортексі для розчинення слизу і осаджували краплі матеріалу центрифугуванням (1500–3000 об/хв продовж 5 секунд), після чого акуратно перемішували вміст пробірки за допомогою піпетування.

Для обробки взятого клінічного матеріалу використовувався комплект реагентів виробництва ФДУН “ЦНДІ епідеміології” Росспоживнагляду “ДНК-сорб-АМ”. Виявляли ДНК вірусів папіломи людини високого канцерогенного ризику (ВКР) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 58, 59, 67 типів у клінічному матеріалі методом полімеразної ланцюгової реакції з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією за допомогою тест-системи “АмпліСенс® ВПЧ ВКР скрин-FL”. У наборі реагентів використано ендogenous внутрішній контроль (ділянка β -глобінового гена), а також технологія “гарячого старту”. Роботу виконували на ампліфікаторі “Palm Cycler” (Corbett Research, Австралія), детекцію здійснювали на флуоресцентному ПЛР-детекторі “АЛА-1/4” (“BioSan”, Латвія).

Використаний метод ґрунтується на одночасній ампліфікації (мультиплекс-ПЛР) і детекції у “кінцевій точці” ділянок ДНК ВПЛ і ДНК β -глобінового гена (ендогенного внутрішнього контролю). Окремо реєструвались (по різним каналам) результати ампліфікації ДНК ВПЛ і внутрішнього контролю. ДНК-мішень, обрана як внутрішній контроль, є ділянкою генома людини і повинна бути завжди присутня у зразку (цервікальному зішкребі) в достатній кількості, еквівалентній кількості клітин в мазку (10^3 – 10^5 геномів).

Таким чином, ендogenous внутрішній контроль дозволяє не тільки контролювати етапи ПЛР-аналізу (виділення ДНК і проведення ПЛР), але і оцінювати адекватність взяття матеріалу і його зберігання. Якщо зішкреб епітелію забраний неправильно (недостатня кількість епітеліальних клітин), сигнал ампліфікації β -глобінового гена буде заниженим.

З метою цитологічного дослідження було взято мазки із поверхні шийки матки та цервікального каналу, пофарбовані азур-еозиною сумішшю за уніфікованим методом Папенгейма. Фарбування виконували за такою схемою: на мазок, висушений на повітрі, наносили фарбу-фіксатор Май–Грюнвальда на 3 хв. Не зливаючи фарбу додавали в такому ж об’ємі дистильовану

воду. Через хвилину фарбу зливали і наносили робочий розчин азур-еозинової суміші на 10–15 хв. Після фарбування препарат змивали дистильованою водою, висушували і досліджували під бінокулярним мікроскопом.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проблема ПВІ набула сьогодні особливого значення у зв'язку з високою контагіозністю збудника, широким його розповсюдженням, схильністю до персистенції, яка відіграє ключову роль у розвитку інтраепітеліальної дисплазії та виступає як пусковий механізм неопластичної трансформації клітин. Сьогодні відомо понад 130 типів ВПЛ, з яких близько 30 можуть інфікувати аногенітальну ділянку. На підставі здатності ВПЛ індукувати неопластичні процеси їх прийнято розподіляти на типи низького, середнього та високого онкологічного ризику. З високоонкогенними типами асоціюється понад 60% випадків раку заднього проходу, вони причетні до раку піхви, вульви, статевого члену, передміхурової залози, яєчника; 10–12% випадків раку гортані та ротової порожнини. Але основна та реальна загроза, спричинена інфікуванням високоонкогенними типами ВПЛ, — це ризик розвитку РШМ. Ключовою науковою концепцією етіопатогенезу РШМ визнана вірусна гіпотеза, центральне місце у якій займає ВПЛ, якому притаманний найбільший онкогенний потенціал. ВПЛ є основним екзогенним фактором цервікального канцерогенезу. Різні типи ВПЛ були виявлені у понад 99% хворих на РШМ. Найчастіше канцерогенез пов'язують з 16 та 18 типами, які викликають 71,5% випадків РШМ у Європі. На долю висококанцерогенних типів (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) припадає лєвова частка (93,8%) ВПЛ-асоційованого РШМ. Так, за даними численних епідеміологічних досліджень відносні ризики розвитку РШМ підвищуються в сотні разів [5, 9, 10].

Визначення етіологічної ролі ВПЛ у розвитку РШМ свідчить про те, що діагностика ПВІ стала важливим елементом скринінгу і профілактики цього захворювання. На підставі отриманих в міжнародних дослідженнях даних показано, що ПЛР властива значно вища чутливість для виявлення цервікальних інтраепітеліальних неоплазій, ніж цитологічному дослідженню, сформульовані рекомендації по застосуванню ПЛР у скринінгу РШМ та чіткі вимоги до ВПЛ-тестів [5, 12, 13, 17, 19].

В економічно розвинених країнах для виявлення високоонкогенних типів ВПЛ та його генотипування рекомендовані та успішно використовуються комерційні тести, засновані на ПЛР та/або гібридизації, розроблені та впроваджуються тести на основі новітніх технологій (ПЛР в реальному часі, технологія ампліфікації НК NASBA) [9].

На першому етапі дослідження проведеного методом ПЛР з усієї групи — 4069 осіб у 1516 жінок були виявлені ВПЛ високого канцерогенного ризику (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 58, 59, 67), що склало 37,26% від загального числа обстежених.

Розподіл обстежених пацієнтів за віком дозволив виявити певні коливання щодо відсотку ВПЛ-інфікованих у різних вікових групах (рис. 1): 17–30 років — 822 (54,22%); 31–40 років — 476 (31,40%); 41–50 років — 101 (6,66%); 51–60 років — 114 (7,52%); понад 61 рік — 3 (0,20%).

Згідно з отриманими даними, максимальна кількість ВПЛ-інфікованих осіб — 54,22% припадала на групу, вікові обмеження для якої становили від 17 до 30 років. З нашої точки зору, це можна пояснити тим, що основний шлях передачі ПВІ найбільш активно реалізується саме в цій віковій групі. Крім того, враховуючи анамнестичні дані, було встановлено, що саме в цьому віковому інтервалі знаходились жінки, які відвідували гінекологічні клініки (відділення) у зв'язку з підозрою на наявність ІПСШ та жінки декретованих професій.

Зважаючи на те, що інфікованість макроорганізму ВПЛ не завжди призводить до розвитку патологічного процесу, слід чітко розрізняти направленість лабораторного дослідження —

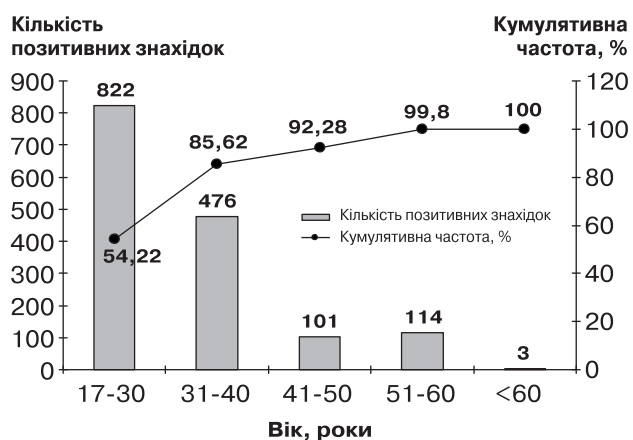
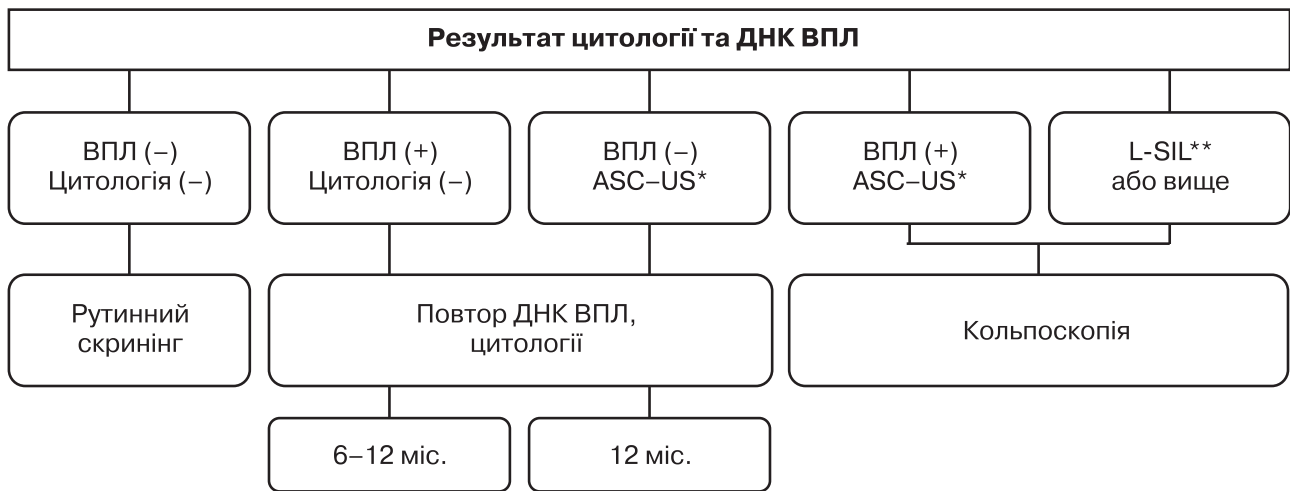


Рис. 1. Розподіл обстежених пацієнтів за віком з урахуванням кількості позитивних результатів (виявлення ДНК ВПЛ методом ПЛР)



Для жінок віком понад 30 років

* – ASC-US (atypical squamous cells underdetermined significance) – атипів клітини плаского епітелію неясного значення;
 ** – L-SIL (low grade squamous intraepithelial lesion) – низький ступінь пласкоклетинного інтраепітеліального ураження.

Рис. 2. Алгоритм використання тесту на ДНК ВПЛ спільно з цитологією на першому етапі скринінгу

скринінг чи діагностика. Отримані нами результати досліджень свідчать про те, що скринінгові дослідження в Україні необхідно починати з 20–25-річного віку, адже найбільш інфікованою виявилась група 17–30 років.

На підставі даних, отриманих міжнародними організаціями (ASCCP, EUROGIN, ESIDOG та ін.), запропоновані рекомендації щодо застосування для діагностики цервікальних інтраепітеліальних неоплазій ЦІН та РШМ; зокрема, в первинному скринінгу у жінок, старших за

30 років, у поєднанні з цитологічним дослідженням або як самостійний тест в країнах, де погано організовані програми цервікального цитологічного скринінгу (рис. 2) [3, 9, 15].

На наступному етапі дослідження нами було проведено порівняльне вивчення ефективності цитологічного методу та ПЛР. Було з'ясовано, що цитологічні ознаки ВПЛ-інфікування спостерігались у 76,4% випадків у жінок з диспластичними ураженнями шийки матки, при застосуванні ПЛР показник склав 92,1%. В разі відсутності дисплазії 9,2% проти 17,1% випадків відповідно (рис. 3).

За результатами молекулярно-генетичних досліджень можливо визначити належність пацієнта до групи високого ризику, щодо розвитку РШМ; потребу в додаткових ретельних діагностичних процедурах з метою встановлення стадії інфекції та виключення важких дисплазій та РШМ, а також необхідність у спостереженні за інфекцією навіть при відсутності клінічних/субклінічних проявів. Наші дослідження співпадають з дослідженнями та досвідом країн Європи та США, які показали, що використання цитологічного обстеження та ПЛР дозволяє збільшити виявлення ЦІН та раку шийки матки до 90–95%. При цьому є всі підстави до збільшення інтервалу між скринінговими обстеженнями до 3–5 років, адже встановлено, що у пацієнок з негативним результатом ВПЛ-тесту і нормальним цитологічним заключенням впродовж 3–5 років не відбувається розвиток ЦІН-III [11, 15].

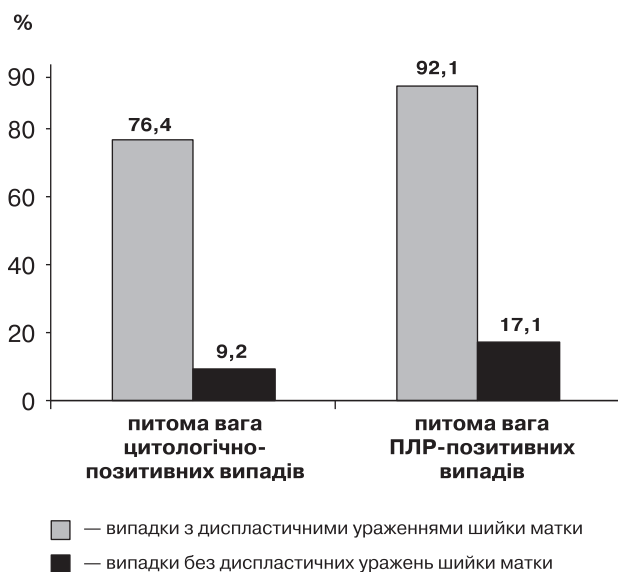


Рис. 3. Порівняння ефективності цитологічного методу та ПЛР у жінок з диспластичними ураженнями шийки матки та з відсутністю дисплазії шийки матки

ВИСНОВКИ

1. Результати проведених досліджень, свідчать про широке розповсюдження в Україні вірусів папіломи людини високого канцерогенного ризику серед жінок (37,26%), особливо серед жінок репродуктивного віку від 17 до 30 років (54,22%).

2. Показано, що метод ПЛР дозволяє виявити ВПЛ високого канцерогенного ризику у зішкребах шийки матки осіб, в яких не виявляються диспластичні зміни епітелію, що робить ефективним його використання в Україні як діагностичний критерій ASC-US, а можливо і для контролю терапії ЦІН.

3. З метою профілактики розвитку РШМ в Україні для раннього виявлення передракових змін шийки матки і попередження розвитку інвазійного раку доцільно запровадити первинний скринінг, ефективним інструментом якого є комплексна діагностика захворювання на ранній стадії із застосуванням ВПЛ-тестування та цитологічного обстеження.

4. Впровадження методу виявлення ДНК ВПЛ методом ПЛР суттєво підвищує ефективність діагностики передракових станів за рахунок високої чутливості (88–99%) та прогностичної значущості методу, високої специфічності, автоматизації процесу, а також реальної можливості стандартизації методу. Наявність в Україні відповідно облаштованих ПЛР-лабораторій та зареєстрованих діагностичних тест-систем дасть можливість запровадити комплексний підхід до питання лабораторної діагностики ПВІ, поставивши його на якісно більш високий рівень.

Перспектива подальших наукових досліджень полягатиме у проведенні наукового обґрунтування запровадження первинного скринінгу, ефективним інструментом якого є комплексна діагностика захворювання на ранній стадії із застосуванням ВПЛ-тестування та цитологічного обстеження.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Амбулаторно-поликлиническа помощь в гинекологии / Под. ред. проф. В.А. Бенюка. — 2-е изд., доп. — К., 2010. — С. 127–130.*
2. *Болгова Л.С., Туганова Т.Н., Воробьева Л.И., Жилка Л.И., Махортова М.Г. Цитологический скрининг рака шейки матки (пособие для врачей). — К., 2007. — 148 с.*
3. *Волошина Н.Н. Роль ВПЧ-тестов в диагностике и мониторинге цервикальных интраэпителиальных неоплазий // Сучасні медичні технології. — 2010. — № 4. — С. 64–68.*
4. *Воробьева Л.И. Цитологический скрининг рака шейки матки // Здоров'я України. — 2008. — № 2/1. — С. 18.*

5. *Кувєда Д.А., Шипулина О.Ю. ВПЧ-тестирование: алгоритмы диагностики и требования к молекулярным тестам для выявления вирусов папилломы человека // Профилактична медицина. — 2008. — № 4. — С. 75–82.*
6. *Мелехова Н.Ю. Вирусные инфекции и патология репродукции / Моногр. — 4-е издан., перераб. и дополн. — Смоленск, 2008. — С. 24–45.*
7. *Палійчук О.В., Поліщук Л.З. Черкаський обл. онкодиспансер, Інст-т експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького. Роль інфекційних чинників в етіології і патогенезі інтраепітеліальної неоплазії і раку шийки матки (огляд літератури) // Репродуктивное здоровье женщины, прилож. к № 3 (32). — К., 2007. — С. 10–15.*
8. *Пестрикова Т.Ю., Юрасов И.В., Юрасова Е.А. Воспалительные заболевания в гинекологии. — М.: Литтерра, 2009. — С. 103–107.*
9. *Профилактика рака шейки матки: Руководство для врачей. — М.: МЕДпресс-информ, 2008. — 55 с.*
10. *Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. — 141 с.*
11. *Cuzick J., Mayrand M., Ronco G. et al. / Chapter 10: New dimensions in cervical cancer screening // Vaccine. — 2006. — Vol. 24 (S3). — P. 90–973.*
12. *Goldie S., Gaffikin L., Goldhaber-Fiebert J. et al. Cost-effectiveness of Cervical cancer Screening in Five Developing Countries // N. Engl. J. Med. — 2005. — Vol. 353 (20). — P. 2158–2168.*
13. *Khan M., Castle P., Lorincz A. et al. The elevated 10-year of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice // J. Natl. Cancer Inst. — 2005. — Vol. 97. — P. 1072–1079.*
14. *Sankaranarayanan R., Gaffikin L., Jacob M. et al. A critical assessment of screening methods for cervical neoplasia // Int. J. Gynecol. Obstet. — 2005. — Vol. 89. — P. 4–12.*
15. *US Preventive Services Task Force. Screening for cervical cancer/ Recommendations and rationale. AHRG Pub. № 3-515A, January 2003. Accessed 19 June 2006.*
16. *Waggoner S. Cervical cancer // Lancet. — 2003. — Vol. 361. — P. 2217–2225.*
17. *Wright T., Schiffman M., Solomon D., et al. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening // Obstet Gynecol. — 2004. — Vol. 103 (2). — P. 304–309.*
18. *World Health Organization (WHO). Comprehensive Cervical Cancer Control. A guide to essential practice. — Geneva: WHO 2006. http://www.who.int/reproductive-health/publication/cervical_cancer_gcp/text.*
19. *www.info.cancerresearchuk.org/cancerstats/types/cervix/screening.*

НОВЫЕ АСПЕКТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Е.В. Ковалюк, И.В. Дзюблик, И.Г. Костенко, Е.А. Олейник, Н.Н. Жеребко, А.П. Артемчук

В статье представлены результаты собственных исследований, свидетельствующие о широком распространении в Украине вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска среди женщин (37,26%), особенно среди женщин репродуктивного возраста от 17 до 30 лет (54,22%). Показано, что внедрение метода выявления ДНК вируса папилломы человека методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией существенно повышает эффективность диагностики предраковых состояний за счет высокой чувствительности (88–99%) и

прогностическої значимості метода, високої специфічності, автоматизації процесу, а також реальної можливості стандартизації метода. Показана цілесобразність і ефективність використання комплексного підходу з використанням цитологічного обстеження і ПЦР-тестування в діагностиці передракових станів шийки матки і предупредження розвитку інвазивного раку. Представлені переваги і недоліки цитологічного дослідження при первинному скринингу осіб з групи підвищеного ризику. Предложено комплексний підхід при обстеженні жінок старше 30 років, який включає в себе подвійне обстеження з використанням цитологічної діагностики і ПЦР-тестування.

NEW ASPECTS OF PAPILLOMA VIRUS LABORATORY DIAGNOSTICS

O.V. Kovaliuk, I.V. Dziublyk, I.G. Kostenko, O.A. Olynyk, N.M. Zhrebko, H.P. Artemchuk

Summary: the article shows the results of the research which proves the widespread distribution of human papilloma virus of high carcinogenic risk among women (37,26%) (especially among childbearing aged women (17–30) — approximately 54,22%). The authors also state that implementation of polymerase chain reaction (PCR) DNA testing with hybrid-fluorescent detection significantly increases efficiency of precancerous conditions diagnostics due to high sensitivity (88–99%), prognostic significance, high specificity, process automation and standardizing ability of the method. The article shows appropriateness and efficiency of implementing of comprehensive approach including cytologic diagnostics and PCR testing in womb neck precancerous conditions diagnostics and invasive cancer prevention. The pros and cons of using cytologic diagnostics during primary screening of high risk groups are also analyzed. The group of authors offers a comprehensive approach for examination of women after 30 which involves double examination with cytologic diagnostics and PCR testing.

УДК 576.858:611-018.54

Ю.О. Загородня^{1,2}, А.С. Тимченко¹,
М.М. Скринник², О.В. Куркіна²,
С.Ю. Сергута¹

БЕЗПЕКА ПЛАЗМИ КРОВІ: ВМІСТ ПАРВОВІРУСУ В19 У МІНІПУЛАХ ПЛАЗМИ КРОВІ ДОНОРІВ

¹ ДУ "Інститут гематології та трансфузіології НАМНУ", м. Київ

² ПрАТ "Біофарма", м. Київ

Сучасний стан гемотрансфузіології як одного з основних видів медичної допомоги хворим з масивними крововтратами включає в себе не тільки проведення гемотрансфузії компонентів крові і біопрепаратів плазми крові, а й виконання

заходів системи Наemovigilance (буквально — гемобезпека, вірусна безпека крові) [2]

Відомо, що парвовірус штаму В19 — основний патоген роду *Erythrovirus* родини *Parvoviridae* та один із найменших вірусів ссавців, що відноситься до гемотрансмісивних вірусів С, розміри віріона складають 18–26 нм). Геном цього збудника представлений одонитковою лінійною позитивною або негативною молекулою ДНК завдовжки 5,1 Кб, а сам віріон позбавлений суперкапсиду. Реплікація вірусу відбувається, в основному, в попередниках еритроцитів, спричиняючи їхній лізис [1, 3, 9]. Первинне інфікування характеризується високим вмістом ДНК вірусу та проявляється у вигляді еритеми, після чого в інфікованої людини виробляється достатня кількість імуноглобулінів класу G (IgG), що нейтралізують вірус. Імунітет проти парвовірусу В19 у людей зі здоровою імунною системою, як правило, позитивний, і рецидиви хвороби трапляються вкрай рідко. Проте, в окремих випадках, вірус може викликати такі небезпечні захворювання, як артрит, апластична анемія та порушення розвитку плоду. Парвовірус В19 включений до групи TORCH інфекцій. Даний вірус широко розповсюджений — антитіла до нього виявляються приблизно у 15% дітей, 50% дорослих та 85% людей похилого віку. Провідними шляхами його передачі є повітряно-крапельний та гемотрансмісивний (через кров або продукти крові) [5, 10].

Оскільки парвовірус В19 характеризується термостабільністю, має порівняно невеликі розміри та позбавлений білкової оболонки, багато методів інактивації вірусів, які застосовуються у процесі виробництва препаратів крові, для нього малоефективні [11]. Крім того, незважаючи на значну поширеність даного вірусу, первинна парвовірусна інфекція становить серйозну небезпеку, особливо для людей із так званої групи ризику, для лікування яких найчастіше застосовують препарати плазми крові (хворі з набутими імунодефіцитними станами, з анеміями різного генезу, вагітні жінки тощо) [3]. Тому суворий контроль вмісту парвовірусу В19 у мініпулах та виробничих пулах плазми має надзвичайно важливе значення для забезпечення вірусної безпеки компонентів та біопрепаратів крові. Так, рядом нормативних документів регламентується гранично допустимий вміст ДНК парвовірусу В19 у пулах плазми для фракціонування — не більше 10⁴ МО/мл [6–8]. Саме така концентрація