

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 стійкостей шийки матки і запобігання 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

даного вірусу у пулі плазми, з одного боку, є мінімально необхідною для інфікування організму, а з іншого — може повністю нейтралізуватися антитілами, що містяться в пулі. Крім того, слід зазначити, що саме позитивні на парвовірус В19 донорії, в яких концентрація копій вірусу не перевищує 10^4 МО/мл, мають найвищі титри нейтралізуючих даних збудник IgG. У зв'язку з цим препарати імуноглобулінів, виготовлені з такої сировини, ефективні для лікування та профілактики парвовірусної інфекції [4, 7].

Метою роботи було оцінити частоту та рівень контамінації парвовірусом В19 пулів плазми для фракціонування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реально-го часу. Для аналізу використали 120 зразків мініпулів донорської плазми. Кожен мініпул об'єднував 40 індивідуальних порцій плазми, отриманих із різних станцій переливання крові України за період 2009–2011 рр. ПЛР проводили з використанням набору для виділення ДНК “Проба НК” виробництва “ДНК-технологія” (Росія) та тест-системи “АмплиСенс® Parvovirus B19-FL” (Росія). Дослідження виконували на детектуючому ампліфікаторі ДТ-96 виробництва “ДНК-технологія” (Росія). Статистичну обробку даних здійснювали з використанням програми Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті дослідження встановлено, що ДНК парвовірусу В19 містилися 63 із 120 проаналізованих мініпулів (52%) (рис.).

Група позитивних мініпулів була гетерогенною, середній вміст ДНК парвовірусу В19 склав $(51,0 \pm 17,0)$ МО/мл (від 0,3 до 942 МО/мл), а медіана становила 8 МО/мл. Як видно з наведених даних, переважна більшість позитивних пулів плазми характеризувалась низьким вмістом генетичного матеріалу парвовірусу В19, і в жодному з проаналізованих зразків не виявлено перевищення регламентованого рівня 10^4 МО/мл.

Проте, слід зазначити, що низьке інфекційне навантаження парвовірусом В19 мініпулів плазми крові донорів зовсім не виключає можливості наявності в їхньому складі індивідуальних донорій із високим вмістом (понад 10^4 МО/мл) ДНК цього збудника. У зв'язку з цим було визначено умовний граничний вміст генетичного матеріалу

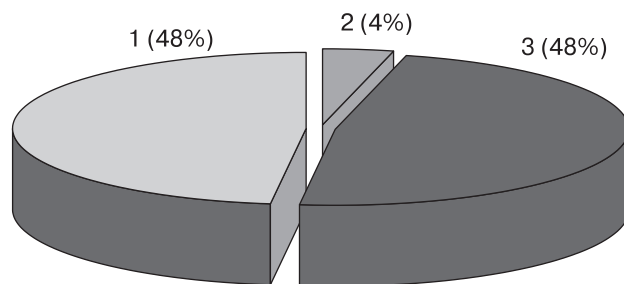


Рис. Розподіл пулів плазми за вмістом ДНК парвовірусу В19: 1 — частка негативних пулів; 2 — частка пулів із вмістом ДНК парвовірусу В19 понад 250 МО/мл; 3 — частка пулів із вмістом ДНК парвовірусу В19 менше 250 МО/мл

вірусу у пулі плазми — оскільки максимально допустимий вміст ДНК парвовірусу В19 в індивідуальній порції плазми складає 10^4 МО/мл, то в об'єднаному пулі із 40 одиниць він, відповідно, становитиме 250 МО/мл. Серед проаналізованих пулів виявлено 5 (4%) зразків, вміст ДНК парвовірусу В19 в яких перевищував 250 МО/мл (рис.). Середня концентрація ДНК парвовірусу В19 у даній групі склала $(610,0 \pm 115,7)$ МО/мл (від 376 до 943 МО/мл).

Таким чином, отримані дані свідчать про значну поширеність парвовірусної інфекції серед донорів та високу небезпеку передачі вірусу через переливання індивідуальних донорій крові та її компонентів. Все це вказує на необхідність впровадження обов'язкового тестування донорської крові для переливання і отримання препаратів плазми крові на вміст ДНК парвовірусу В19 як важливий показник її вірусної безпеки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дьяконова В.В., Попова Н.Н., Жибурт Е.Б. Инфекция парвовирусом В19 // Трансфузиология. — 2002. — Т. 1, № 3. — С. 62–73.
2. Керівництво з приготування, використання та забезпечення якості компонентів крові: 11-е видання Ради Європи. — Київ–Дніпропетровськ: АРТ-ПРЕС, 2006. — 260 с.
3. Струк В. Ф., Коломійцева А. Г., Гудивок І. І. та ін. Профілактика і лікування акушерсько-перинатальних ускладнень у вагітних з парвовірусною інфекцією: Методичні рекомендації. — К., 2006. — 22 с.
4. Bonvicini F., Gallinella G., Cracca M. et al. Molecular testing for detection of in vitro infectivity of plasma pools contaminated with B19 virus // J. Med. Virol. — 2004. — Vol. 74, № 2. — P. 272–276.
5. Bonvicini F., Gallinella G., Gentilomi G.A. et al. Prevention of pathogenic transmission of B19 infection: different approaches to detect, remove or inactivate virus contamination // Clin Lab. — 2006. — Vol. 52, № 5–6. — P. 263–268.
6. European Pharmacopoeia 6th. Human plasma (pooled and treated for virus inactivation): 01/2011. — 1646 p.
7. FDA's Current Thinking on Parvovirus B19 NAT for Blood and Plasma. Blood Products Advisory Committee Meeting March 14–15, 2002. — 10 p.
8. Guideline on the warning on transmissible agents in summary of product characteristics (SmPCs) and package leaf-

lets for plasma-derived medicinal products. EMA/CHMP/BWP/360642/2010 rev. 1. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). European Medicines Agency, 2011. — P. 25–34.

9. Klein H.G. Transfused B19V: B-nign, B-ware, B-gone // *Blood*. — 2009. — Vol. 114. — P. 3509–3511.
10. Lamont R., Sobel J., Vaisbuch E. et al. Parvovirus B19 infection in human pregnancy // *Intern. J. Obstetrics & Gynaecology*. — 2011. — Vol. 118. — P. 175–186.
11. Tsujikawa M., Nishigaki H., Yoshikawa M. et al. Variability of parvovirus B19 genotype 2 in plasma products with different compositions in the inactivation sensitivity by liquid-heating // *Vox Sang*. — 2012. — Vol. 102, № 2. — P. 93–99.

БЕЗОПАСНОСТЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ: СОДЕРЖАНИЕ ПАРВОВИРУСА В19 В МИНИПУЛАХ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ

*Ю.А. Загородняя, А.С. Тимченко, М.М. Скрынник,
О.В. Куркина, С.Ю. Сергутина*

Проведено исследование уровня контаминации донорской плазмы крови, используемой для производства препаратов крови, парвовирусом В19. Показано наличие генетического материала данного возбудителя у половины исследованных образцов. В некоторых пулах выявлено большое содержание ДНК парвовируса В19, что свидетельствует о высоком риске его передачи через индивидуальные донации крови.

SAFETY OF BLOOD PLASMA: PARVOVIRUS B19 CONTENT IN MINIPOOLS OF DONOR BLOOD PLASMA

*Yu.O. Zagorodnia, A.S. Timchenko, M.M. Skrynnik,
O.V. Kurkina, S.Yu. Sergutina*

In the current study, the level of Parvovirus B19 contamination of donor blood plasma used for manufacturing of blood preparations has been investigated. It has been shown that the half of investigated examples have genetic material of this agent. In several pools there is a high level of Parvovirus B19 DNA which can be the evidence for high risk of its transmission via individual blood donations.

УДК 616-078+616-084:616-006.446.8

О.А. Мельник

МІКРОФЛОРА ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ЯК ЧИННИК ІНФЕКЦІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ НА ЛЕЙКЕМІЮ МІЕЛОЇДНОГО ПОХОДЖЕННЯ

*ДУ “Інститут гематології та трансфузіології
НАМН України”, м. Київ (лабораторія мікробіології
та проблем антиінфекційного імунітету)*

Ризик виникнення інфекційно-запальних ускладнень (ІЗУ) в онкогематологічних хворих, зокрема у хворих на лейкемію, пов'язаний із

послабленням захисних механізмів організму внаслідок основного захворювання та розвитком симптомокомплексу цитостатичної хвороби, головним проявом якого є синдром пригнічення кровотворення (лейкопенія, тромбоцитопенія, анемія різного ступеня тяжкості) [2, 12, 14].

У здоровому організмі людини індигенна мікрофлора є відкритою саморегульованою екосистемою, яка підтримує оптимальний рівень колонізаційної резистентності біотопів [1, 11]. Зокрема, мікрофлора ротової порожнини та зіву на основі конкурентної адгезії виконує роль захисного бар'єру від чужорідних патогенних мікроорганізмів. У випадку порушення імунологічної реактивності організму підсилюються передумови для реалізації патогенних властивостей представників індигенної мікрофлори: навіть нешкідливі коменсали можуть стати збудниками тяжких інфекційно-запальних процесів. У такому випадку ледь не всі мікроорганізми, що постійно чи тимчасово присутні у складі нормоценозу, можуть створювати базис для ендогенних аутоінфекцій [8].

Найбільш вагомим чинником мікроекологічних порушень біотопів хворих є нераціональне використання антибіотичних препаратів, серед яких немає на сьогодні таких, що діяли б виключно на клітини патогенних бактерій та не впливали на індигенну мікрофлору.

Для лікування онкогематологічних хворих емпірично призначають антибіотики широкого спектра дії, негативний вплив яких часто пов'язаний як зі зміною в часі характеру переважуючої мікрофлори внаслідок використання нових цитостатичних засобів та інтенсифікації хімотерапії (ХТ), так і з чутливістю до нових генерацій тих чи інших ліків. З метою припинення застосування надмірної кількості антибактеріальних та протигрибкових засобів актуальним є визначення серед онкогематологічних хворих груп ризику стосовно розвитку ІЗУ та використання профілактичних методів для їх запобігання [7].

Метою роботи було дослідження стану мікробіоценозів верхніх дихальних шляхів хворих на лейкемію мієлоїдного походження щодо виявлення потенційних збудників інфекційно-запальних ускладнень.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Мікробіологічні дослідження слизових оболонок носової порожнини та зіву були проведені у 28 хворих на гостру мієлоїдну лейкемію (ГМЛ)