

B2-MICROGLOBULIN AND NEOPTERIN USE THE PROGNOSIS OF THE HIV INFECTION

**O.A. Volikova, L.R. Shostakovich-Koretskaya, K.YU. Litvin,
E.A. Kushnerova, L.V. Kryachkova, I.N. Margitich**

Summary: *We investigated the prognostic informativeness levels β 2-microglobulin (β 2-MG) and neopterin (N) in comparison with the level of $CD4^+$ T-helper lymphocytes ($CD4^+$) in HIV patients with different clinical stages. Revealed that the degree and direction of changes in the level of $CD4^+$ associated inverse correlation of medium strength with changes in the level of neopterin and β 2-microglobulin, and may reflect the degree of immunosuppression in patients with HIV infection.*

Key words: *HIV infection, neopterin, β 2-microglobulin, $CD4^+$ T-helper lymphocytes ($CD4^+$), prognostic informativeness.*

УДК 616.9

ОПЫТ ТЕСТИРОВАНИЯ ДОНОРСКОЙ КРОВИ НА МАРКЕРЫ ВИРУСНЫХ ГЕМОТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ЗАПОРОЖСКОЙ ОБЛАСТИ

**А.Ф. Воробьев, Р.А. Знаменская, Л.В. Басанская, Е.В. Зеленухина,
И.Н. Ежова, Т.Ф. Таранцова, Л.С. Акчурина**

Резюме: *представлены результаты тестирования донорской крови иммуносерологическими методами и производственных пулов плазмы методом полимеразной цепной реакции.*

Ключевые слова: *вирусная безопасность, скрининг донорской крови, маркеры вирусных гемотрансмиссивных инфекций, метод иммуноферментного анализа (ИФА), метод иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА), полимеразная цепная реакция (ПЦР), производственный пул плазмы, выявляемость, верификация, динамика.*

Согласно литературным источникам более 20 инфекционных агентов вирусной, бактериальной и паразитарной природы могут передаваться через кровь. Наиболее значимыми возбудителями гемотрансмиссивных инфекций являются вирусы иммунодефицита человека, гепатитов В и С.

По данным МОЗ Украины, с 1987 по 2013 год в стране официально зарегистрировано 25 случаев инфицирования вирусом иммунодефицита при переливании компонентов крови. Официальная статистика об инфицировании реципиентов возбудителями парентеральных вирусных гепатитов отсутствует.

В основе мероприятий, направленных на профилактику посттрансфузионных инфекционных осложнений, лежит учение об эпидемическом

процессе и принцип комплексного воздействия на три его главные движущие силы, принимая во внимание, что при устранении хотя бы одной из них эпидемический процесс прерывается.

Обязательный лабораторный скрининг донорской крови иммунологическими методами ИФА и ИХЛА является важной составляющей комплексных действий, повышающих вирусную безопасность гемотрансфузионных сред. Однако риск инфицирования при аллогенных гемотрансфузиях сохраняется, что обусловлено рядом причин, среди которых важное значение имеет наличие периода «серонегативного окна» и других особенностей инфекционного процесса.

Минимизировать риск передачи возбудителей вирусных инфекций позволяет генамплификационное тестирование донорской крови и производственных пулов плазмы, используемой для фракционирования и производства препаратов крови.

Так, по данным литературы, остаточный риск инфицирования ВИЧ при переливании одной дозы крови в США составляет:

1: 420000 при тестировании только на анти – ВИЧ 1/2,

1: 676000 при одновременном выявлении анти-ВИЧ 1/2 и антигена р24 ВИЧ-1,

1: 1000000 при тестировании с применением NAT-технологий.

В разных странах мира эти цифры варьируются в зависимости от распространенности инфекции, системы отбора доноров и соответствия фактической чувствительности и специфичности используемых коммерческих реагентов заявленному уровню.

Применение NAT-технологий в службе крови регламентируется приказами МОЗ Украины от 19.02.2013 № 134 «Про затвердження порядку скринінгу донорської крові та її компонентів на гемотрансмісивні інфекції» и от 02.06.2005 № 247 «Про затвердження документів з питань контролю якості препаратів крові».

Цель работы – изучить и сравнить частоту выявления серологических маркеров ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов В и С среди доноров Запорожской области методами ИФА и ИХЛА, а также частоту обнаружения генетических маркеров данных инфекций методом ПЦР в производственных пулах плазмы, у доноров кроводач и тромбоцитов (аферез), серонегативных в ИФА и ИХЛА.

Материалы и методы

Использованы данные ретроспективного анализа выявления общепринятых серологических маркеров ВИЧ-инфекции (р24 антиген HIV-1, анти-HIV1/2), вирусного гепатита С (анти-НСV), вирусного гепатита В (HBsAg) в период 2011–2013 гг. Скрининг образцов донорской крови проводили метода-

ми ИФА и ИХЛА на тест-системах отечественных («ДиапрофМед», «Диагностические системы – Украина», «Бест Диагностика») и зарубежных («АББОТТ», «БиоРад» – США, «Вектор-Бест», «Диагностические системы» – Россия) производителей. При постановке реакции и учете результатов использовали оборудование для ИФА фирм «Санофи Диагностикс Пастер» (Франция), «БиоРад» (США), «Текан» (Австрия), автоматический иммунохимический анализатор закрытого типа ARCHITECT i2000SR «АББОТТ» (США).

Заявленные производителями минимальные определяемые уровни чувствительности и специфичности серологических тестов не ниже 99,5%. Аналитическая чувствительность иммуноферментных тест-систем по HBsAg у разных производителей согласно паспорту составляла 0,05 МЕ/мл и 0,1МЕ/мл, реагентов фирмы «АББОТТ» – в диапазоне от 0,019 МЕ/мл до 0,020 МЕ/мл. Аналитическая чувствительность реагентов разных производителей по р 24 антигену ВИЧ-1 составляла от 10 пг/мл до 20 пг/мл.

Верифицировали серопозитивные результаты только на маркеры ВИЧ-инфекции в КУ «Запорожский областной центр профилактики и борьбы со СПИДом» ЗОС согласно утвержденному в стране алгоритму.

Скрининг донорской крови и верификация образцов проводили в рамках системы внешнего контроля качества тестирования – участие в Программах межлабораторных сравнений результатов измерений «Антитела до ВІЛ» (на постоянной основе) и «Вірусні гепатити та ВІЛ» (периодически).

Методом ПЦР исследовали 456 производственных пула плазмы, пул формируемая плазмой от 50–90 донаций, негативных в ИФА или ИХЛА тестировании, его объем составлял 15,6 л.

ПЦР-тестирование производственных пулов плазмы проводили:

- набором реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL», предназначенного для одновременного выявления РНК вируса гепатита С (HCV), ДНК вируса гепатита В (HBV) и РНК вируса иммунодефицита человека 1-типа (HIV-1). Проведение обратной транскрипции РНК и амплификации ДНК/кДНК с гибридизационно-флюоресцентной детекцией в режиме «реального времени» осуществлялось на многоканальной системе детекции ПЦР продуктов iQ-5 Bio-Rad. Экстракция РНК/ДНК из плазмы крови проводилась совместно с внутренним контрольным образцом. Аналитическая чувствительность реагентов:

HIV-1, копий/мл	HCV, МЕ/мл	HBV, МЕ/мл
200	100	50

- мультиплексной тест-системой cobas TaqScreen MPX Test, version 2.0, которая позволяет выявлять все основные вирусные цели в одном тесте – HIV-1 (группы М и О), HIV-2, HBV (генотипы А-Н), HCV (геноти-

пы/подтипы 1a, 1b, 2, 2a, 2a/c 2b, 3a, 3a/b, 4, 4a, 4b/4c, 5, 5a, 6, 6a), на автоматизированной закрытой лабораторной системе Roche Cobas s 201 (Германия). В каждый тест включен внутренний контроль качества. Аналитическая чувствительность тест-системы:

HIV-1, группа M, МЕ/мл	HIV-1, группа O, копий/мл	HIV-2, копий/мл	HBV, МЕ/мл	HBV, МЕ/мл
46.2	18.3	56.2	6.8	2.3

Кроме того, с помощью тест-системы cobas TaqScreen MPX Test, vers. 2.0 исследованы образцы нативной плазмы 51 донора тромбоцитов (аферез) и 437 доноров крови, серонегативных по результатам предварительного тестирования методом ИХЛА. Отбор доноров проводился методом случайной выборки. Забор крови осуществлялся в вакуумные пробирки с K₂ ЭДТА и гелевым разделителем. Образцы пулировали ручным способом в ламинарном боксе 2А класса безопасности или автоматизированным – на пипетторе Hamilton STAR. Величина манипулов составляла 2-6 образцов. Плазма доноров тромбоцитов (аферез) исследовалась в единичном тесте.

Тестирование проводили в соответствии с инструкцией предприятия-изготовителя. Все реагенты и оборудование сертифицированы и рекомендованы к использованию в Украине.

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием относительных величин, расчета средней ошибки показателя. Достоверность различных показателей оценивали путем расчета коэффициента Стьюдента (t).

Результаты исследования и их обсуждение

Данные скрининга донорской крови с 2011 по 2013 гг. представлены в таблице 1.

Таблица 1

Динамика частоты выявления серологических маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров Запорожской области в 2011–2013 гг.

Год	Количество исследованных донаций	Количество серопозитивных образцов					
		p24 антиген HIV-1, анти HIV 1/2		HBsAg		Анти-НСV	
		абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
2011	44006	316	0,72	199	0,45	481	1,1
2012	45292	95	0,21	125	0,28	412	0,9
2013	45467	68	0,15	142	0,31	465	1,0

Установлено, что с 2011 по 2013гг. показатель частоты выявления анти-НСV оставался довольно стабильным (0,9–1,1%). Частота выявления HBsAg уменьшилась с 0,45% до 0,31% ($t \geq 2$). Наиболее значимо, в 4,8 раза, снизился показатель выявляемости p24 антигена HIV-1, анти-HIV 1/2.

Результаты верификационных исследований на серологические маркеры ВИЧ-инфекции (табл.2) свидетельствуют, что за анализируемый период более чем в 2 раза увеличилось подтверждение результатов первичного скрининга и соответственно уменьшилось количество ложноположительных результатов. Разница между показателями в 2011 г. и 2012–2013 гг. является существенной ($t \geq 2$).

Таблица 2

Результаты верификационных исследований образцов донорской крови на серологические маркеры ВИЧ-инфекции в 2011–2013 гг.

Год	Количество образцов, направленных на верификацию	Количество подтвержденных (абс. ч.)	% подтверждения
2011	316	35	11,1
2012	95	23	24,2
2013	68	18	26,5

С 2012 года 68% всех полученных в области донаций тестируется методом ИХЛА на автоматическом иммунохимическом анализаторе ARCHITECT i2000SR. В таблице3 представлены сравнительные результаты тестирования образцов донорской крови методами ИФА и ИХЛА.

Таблица 3

Сравнительная характеристика частоты выявления серологических маркеров гемотрансмиссивных инфекций методами ИФА и ИХЛА в период 2011–2013 гг.

Год	Количество исследованных образцов в ИФА / ИХЛА	Частота выявления (%)					
		p 24 антиген HIV-1, анти HIV 1/2		HBsAg		Анти-НСV	
		ИФА	ИХЛА	ИФА	ИХЛА	ИФА	ИХЛА
2011	44006 / 0	0,72	–	0,45	–	1,1	–
2012	14479 / 30813	0,52	0,07	0,42	0,21	0,98	0,88
2013	14724 / 30743	0,26	0,1	0,37	0,28	1,1	0,92

С 2011 г. по 2013 г. наблюдается резкое снижение частоты выявления р24 антигена HIV-1, анти-HIV 1/2 методом ИФА с 0,72% до 0,26% ($t \geq 2$). Показатель частоты выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций методом ИХЛА и выявления HBsAg, анти-HCV методом ИФА достаточно стабилен ($t \leq 2$).

Частота выявления р 24 антиген HIV-1, анти HIV 1/2 методом ИХЛА в 7,4 раза меньше, чем в ИФА в 2012 г. и в 2,6 раза в 2013 г. Статистически достоверная разница частоты выявления HBsAg в ИФА и ИХЛА имела место только в 2012 году. За анализируемый период анти-HCV выявлялись разными методами практически с одинаковой частотой ($t \leq 2$).

Исследование производственных пулов методом ПЦР в 2012–2013 гг. проводили на базе вирусологической лаборатории ГУ «Запорожский областной лабораторный центр ГСЭС Украины», с 2014 года – на базе отдела лабораторной диагностики СПИД и других инфекций, передающихся трансфузионным путем, КУ «Запорожская областная станция переливания крови» ЗОС после установки и инсталляции лабораторной системы Roche Cobas s 201.

Предварительные результаты ПЦР-исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4

Выявляемость генетических маркеров вирусных гемотрансмиссивных инфекций в производственных пулах плазмы донорской крови в период 2012 – 7 мес. 2014 гг.

Всего			Пул сформирован плазмой индивидуальных донаций, серонегативной в ИФА			Пул сформирован плазмой индивидуальных донаций, серонегативной в ИХЛА		
кол-во пулов	кол-во поз-ных	%	кол-во пулов	кол-во поз-ных	%	кол-во пулов	кол-во поз-ных	%
456	17	3,7	145	13	9,0	311	4	1,3
	в т.ч. HBV-6 HCV-11	1,3 2,4		в т.ч. HBV-6 HCV-7	4,1 4,8		в т.ч. HCV-4	1,3

Всего выявлено 17 (3,7%) производственных пулов с маркерами генома вирусов В и С, в том числе ДНК HBV выявлена в 6 пулах (1,3%), РНК HCV – в 11 пулах (2,5%). РНК HIV выявлена не была.

Кроме того, представленные в таблице 4 результаты свидетельствуют, что частота выявления РНК вируса гепатита С после ИФА-

тестирования значительно выше, чем после ИХЛА ($t \geq 2$). В пулах, сформированных донациями после ИХЛА-тестирования, ДНК HBV в исследуемом материале не выявлялась. Данный факт может служить косвенным подтверждением высокой чувствительности реагентов фирмы «АВБОТТ».

РНК и ДНК вирусов гемотрансмиссивных инфекций в индивидуальных донациях обнаружены не были.

Тестирование и накопление данных для дальнейшего анализа продолжается.

Выводы

1. Внедрение в практику метода ИХЛА с использованием автоматического иммунохимического анализатора закрытого типа ARCHITECT i2000SR «АВБОТТ» (США) и реагентов с высокими и стабильными диагностическими характеристиками позволило существенно повысить достоверность лабораторных исследований.

2. Комплекс мероприятий по повышению надежности тестирования донорской крови методом ИФА должен включать проведение валидации тест-систем при их регистрации и регулярный контроль при текущем использовании для установления соответствия фактической чувствительности и специфичности выпускаемых коммерческих реагентов заявленному уровню.

3. Выявление положительных результатов при дополнительном ПЦР-тестировании производственных пулов плазмы свидетельствует о необходимости его использования в качестве обязательного наряду с иммуносерологическими исследованиями донаций для гарантирования вирусной безопасности компонентов и препаратов крови.

Литература

1. Молекулярная диагностика. Сб. трудов / колл. авт., под ред. В.И. Покровского. – Т. 1 – М. : ООО «Издательство МБА», 2014. – 560 с.

2. Материалы научно-практической конференции с международным участием «Современные аспекты донорства, обеспечение вирусной безопасности компонентов и препаратов донорской крови в Украине». – Симферополь : КРП «Издательство «Крымучпедгиз», 2013. – 134 с.

3. Генамплификационное (НАТ) тестирование крови и других материалов на патогены и мутации / Н.А. Федоров, А.А. Елов, Ю.С. Суханов, Е.Б. Жибурт. – М., ООО «Полиграфсервис», 2003. – 210 с.

4. Аналіз епідемічної ситуації щодо ВІЛ-інфекції/СНІД за статистичними показниками. Методичні рекомендації для лікарів епідеміологів центрів з профілактики та боротьби зі СНІД. – К., 2006. – 49 с.

5. Шевченко Ю.Л. Безопасное переливание крови / Ю.Л. Шевченко, Е.Б. Жибурт. – СПб. : Питер, 2000. – 308 с.

ДОСВІД ТЕСТУВАННЯ ДОНОРСЬКОЇ КРОВІ НА МАРКЕРИ ВІРУСНИХ ГЕМОТРАНСМІСИВНИХ ІНФЕКЦІЙ В ЗАПОРІЗЬКОЇ ОБЛАСТІ

А.Ф. Воробійов, Р.А. Знам'янська, Л.В. Басанська,
Е.В. Зеленухіна, І.Н. Єжова, Т.Ф. Таранцова, Л.С. Акчуріна

Резюме. *представлені результати тестування донорської крові імуносерологічними методами і виробничих пулів плазми методом полімеразної ланцюгової реакції.*

Ключові слова: *вірусна безпека, скринінг донорської крові, маркери вірусних гемотрансмисивних інфекцій, метод імуноферментного аналізу (ІФА), метод імунохемилюмінесцентного аналізу (ІХЛА), полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), виробничий пул плазми, виявляємість, верифікація, динаміка.*

EXPERIENCE IN TESTING OF DONATED BLOOD FOR MARKERS OF VIRAL BLOODBORNE INFECTIONS IN THE ZAPORIZHZHIA REGION

A.F. Vorobiev, R.A. Znamianska, L.V. Basanskaya,
E.V. Zelenuhina, I.N. Yezhov, T.F. Tarantsova, L.S. Akchurina

Summary. *The results of the testing of donated blood immunoserological methods and manufacturing plasma pools by polymerase chain reaction.*

Keywords: *viral safety, screening of donated blood, markers of viral bloodborne infections, the method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method immunohemilyuminescentno analysis (IHLA), polymerase chain reaction (PCR), a pool of plasma production, detection, verification, speaker.*

УДК 612.3:616-056:616.1+616.37:616.39

ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ У ВІЙСЬКОВИХ ПЕНСІОНЕРІВ

А.А. Воронко, А.І. Буженко, О.А. Воронко, Ю.П. Єпішев,
С.О. Невмержицький, С.А. Лопатін, А.П. Смаль

Резюме. *В статті порівняно частоту діагностування метаболічного синдрому у чоловіків і жінок старшої вікової групи. Порівняна частота виявлення діагностичних критеріїв метаболічного синдрому IDF-AHA/NHLBI 2009 року у осіб старшої вікової групи та окремо у чоловіків і жінок цієї вікової групи. Досліджена варіабельність метаболічного синдрому за повнотою виявлення його діагностичних критеріїв. Проаналізовані можливості лікувально-профілактичного закладу первинної ланки медичної (медико-санітарної) допомоги щодо своєчасного діагностування метаболічного синдрому з точки зору первинної профілактики серцево-судинних захворювань і цукрового діабету типу 2.*

Ключові слова: *метаболічний синдром, діагностичні критерії, варіабельність, частота діагностування, медична (медико-санітарна) допомога.*