

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт
гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»**

ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ

THE BULLETIN OF HEMATOLOGY

Том XII № 4 2016

Ежеквартальный научно-практический журнал
Основан в сентябре 2004 года

Главный редактор

Доктор медицинских наук
профессор
С. С. Бессмельцев

Санкт-Петербург
2016

Редакционная коллегия:

С. С. Бессмельцев (главный редактор)
А. Н. Богданов; Л. Н. Бубнова; Т. В. Глазанова (ответственный секретарь);
С. А. Гусева; А. Ю. Зарицкий; Н. М. Калинина; Л. П. Папаян; В. Г. Радченко;
В. И. Ругаль; О. А. Рукавицын; В. Н. Чеботкевич, С. В. Грицаев.

Редакционный совет:

Б. В. Афанасьев (Санкт-Петербург); *В. В. Базарный* (Екатеринбург);
М. Л. Гершанович (Санкт-Петербург); *К. Г. Дуткевич* (Санкт-Петербург); *Г. А. Зайцева* (Киров);
Ю. М. Захаров (Челябинск); *Л. Г. Ковалева* (Москва); *А. В. Литвинов* (Смоленск);
В. И. Мазуров (Санкт-Петербург); *И. В. Поддубная* (Москва); *Т. Н. Поспелова* (Новосибирск);
А. Г. Румянцев (Москва); *В. Г. Савченко* (Москва); *Н. Н. Третьяк* (Киев); *Н. П. Шабалов* (Санкт-Петербург).

Зав. редакцией — *Е. Р. Шилова*, тел.: (812) 717-58-57

Ответственный секретарь — *Т. В. Глазанова*, тел.: (812) 717-08-90, факс: (812) 717-20-87

Адрес редакции:

191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16

E-mail: bloodscience@mail.ru

Сайт: www.bloodscience.ru

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.

При перепечатке материалов ссылка на журнал «Вестник гематологии» обязательна.

Мнение членов редакционной коллегии не всегда совпадает с мнением авторов статей.

Обложка и художественное оформление *О. С. Дмитриева*
Компьютерная верстка *О. С. Дмитриева*

Журнал зарегистрирован Северо-Западным окружным межрегиональным территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области Министерства Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средствам массовых коммуникаций.

Свидетельство о регистрации ПИ № 2-7271 от 28 мая 2004 г.

Подписано в печать 10.11.2016 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 300.

Издательство РосНИИГТ, 193024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16.

Отпечатано в ООО «Агентство «ВиТ-принт»», Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 23.

18+

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Костяев А. А., Утёмов С. В., Андреев А. А., Полежаева Т. В., Мартусевич А. К.,
Исаева Н. В., Шерстнев Ф. С., Ветошкин К. А., Калинина Е. Н., Князев М. Г.**
ЧЕТЫРЕХКЛАССНАЯ СИСТЕМАТИЗАЦИЯ БИОКРИОКОНСЕРВАНТОВ.
III класс хладоограждающих растворов — криоконсерванты смешанного действия 4
- Костяев А. А., Утёмов С. В., Андреев А. А., Полежаева Т. В., Мартусевич А. К.,
Исаева Н. В., Шерстнев Ф. С., Ветошкин К. А., Калинина Е. Н., Князев М. Г.**
ЧЕТЫРЕХКЛАССНАЯ СИСТЕМАТИЗАЦИЯ БИОКРИОКОНСЕРВАНТОВ
IV класс хладоограждающих растворов — комбинированные криоконсерванты..... 9

ОБЗОР

- Исаков Д. В., Исаков В. А.**
Новые аспекты патогенеза простого герпеса 13
- ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ИНФЕКЦИИ И ИНФЕКЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ
В ГЕМАТОЛОГИИ И СЛУЖБЕ КРОВИ»**
Санкт-Петербург, 20–21 октября 2016 г. 19
- Алфавитный указатель 68

CONTENTS

ORIGINAL

- Kostyaev A. A., Utyomov S. V., Andreev A. A., Polezhaeva T. V., Martusevich A. K.,
Isaeva N. V., Sherstnyov P. S., Vetoshkin K. A., Kalinina E. N., Knyazev M. G.**
A FOUR CLASS SYSTEMATIZATION OF BIOCRYOCONSERVANTS.
The III class of cold preserving solutions — cryoprotectants of mixed action 4
- Kostyaev A. A., Utyomov S. V., Andreev A. A., Polezhaeva T. V., Martusevich A. K.,
Isaeva N. V., Sherstnyov P. S., Vetoshkin K. A., Kalinina E. N., Knyazev M. G.**
A FOUR CLASS SYSTEMATIZATION OF BIOCRYOCONSERVANTS.
The IV class of cold preserving solutions — combined cryoconservants 9

REVIEW

- Isakov D. V., Isakov V. A.**
NEW ASPECTS IN PATHOGENESIS OF HERPES SIMPLEX INFECTION..... 13
- Index 68

**Костяев А. А.¹, Утёмов С. В.¹, Андреев А. А.¹, Полежаева Т. В.², Мартусевич А. К.³,
Исаева Н. В.¹, Шерстнев Ф. С.¹, Ветошкин К. А.¹, Калинина Е. Н.¹, Князев М. Г.¹**

- ¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России, г. Киров)
² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Сыктывкар
³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кировская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Киров

ЧЕТЫРЕХКЛАСНАЯ СИСТЕМАТИЗАЦИЯ БИОКРИОКОНСЕРВАНТОВ.

III класс хладоограждающих растворов — криоконсерванты смешанного действия

**Kostyaev A. A.¹, Utyomov S. V.¹, Andreev A. A.¹, Polezhaeva T. V.², Martusevich A. K.³,
Isaeva N. V.¹, Sherstnyov P. S.¹, Vetoshkin K. A.¹, Kalinina E. N.¹, Knyazev M. G.¹**

- ¹ Federal State Budget institution of Science «Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency», Kirov
² Federal State Budgetary Institute of Physiology of the Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar
³ Federal State Budgetary Institution of Higher Professional Education «Kirov State Medical Academy» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Kirov

A FOUR CLASS SYSTEMATIZATION OF BIOCRYOCONSERVANTS.

The III class of cold preserving solutions — cryoprotectants of mixed action

Резюме. Рассмотрен III класс хладоограждающих растворов — криоконсерванты смешанного действия, которые проявляют протекторные свойства снаружи и изнутри клеток одновременно. Рецептура растворов базируется на моно- (одном) или би- (двух) криопротекторах смешанного действия. Охарактеризованы некоторые физико-химические, биологические, токсико-фармакологические и хладозащитные свойства криоконсервантов смешанного действия, используемых при замораживании эритроцитов, гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), тромбо- и лейкоконцентратов (КТ, КЛ).

Ключевые слова: криопротекторы, криоконсерванты смешанного действия.

Summary. The III class of cold preserving solutions — cryoconservants of mixed action that exhibit protective properties inside and outside cells are examined. The formulation of solutions is based on mono- (single) or bi- (two) cryoprotectors of mixed action. We characterize some of the physico-chemical, biological, toxicological and pharmacological properties, and cold preserving properties of cryoconservants of mixed action which are used in freezing of red blood cells, hematopoietic stem cells (HSCs), platelet and leucoconcentrators (CT, CL).

Key words: cryoprotectants, biokrioconservants mixed action.

Введение. Важными факторами, обеспечивающими защиту клеток крови и костного мозга от повреждений на этапах замораживания-отогревания, являются состав и свойства криозащитной среды, к основным компонентам которой относятся криопротекторы. Наряду с положительными защитными функциями криопротекторы проявляют разнообразные побочные действия на клеточном и организменном уровне,

что негативно отражается на результатах трансфузионной терапии с использованием защитных агентов у пациентов с заболеваниями системы крови [1–5]. Поэтому до настоящего времени одной из задач при совершенствовании методов криоконсервирования различных трансфузионных сред является поиск новых эффективных криопротекторов и криоконсервантов на их основе.

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей криопротекторов и криоконсервантов смешанного действия, а также перспективность их использования для криоконсервирования компонентов крови и костного мозга, применяемых с лечебной целью.

Материалы и методы. В настоящей работе приведены данные о некоторых физико-химических, биологических, токсико-фармакологических и хладозащитных свойствах криоконсервантов смешанного действия, используемых при замораживании эритроцитов, гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), тромбо- и лейкоконцентратов (КТ, КЛ).

III класс криоконсервантов смешанного хладоограждающего действия образуют органические вещества, которые проявляют на замораживаемые суспензии эффекты проникающих и непроникающих в клетки криопротекторов. Такие свойства впервые были выявлены С. Glauser и Т. Talbot у образцов полимеров окиси этилена с м. м. от 400 до 8 000, положительно проявивших себя при замораживании эритроцитов [6]. В дальнейшем полимерные соединения на основе окиси этилена получили название полиэтиленоксида (ПЭО). На рубеже XX и XXI столетий д. м.н. проф. Е. П. Сведенцов (ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России) совместно с учеными гг. Казани и Кирово-Чепецка синтезировали гексаметиленбистетрагидроксиэтилмочевину (ГМБТОЭМ) — вещество, обладающее свойствами криопротектора смешанного действия на клетки [1].

Хладоограждающие растворы III класса содержат по одному (моно-) или два (би-) криоконсерванта смешанного действия.

Монокриоконсерванты смешанного действия. К настоящему времени из числа монокриозащитных веществ 3 класса наибольшую известность получили полиэтиленоксид-400 (ПЭО-400), полиэтиленоксид-1500 (ПЭО-150) и ГМБТОЭМ.

Общие сведения о ПЭО. Химическая формула: $\text{HOCH}_2-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{CH}_2-\text{OH}$. В молекуле ПЭО представлены два типа реакционных групп: оксиэтильные ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$) и гидроксильные ($-\text{OH}$) [2]. Олигомеры ПЭО с м. м. от 300 до 6 000 используются как лечебные препараты. ПЭО-400 и ПЭО-150 нашли применение в качестве протекторов клеток костного мозга, крови и других биологических объектов [2, 4, 5].

Монокриоконсерванты смешанного действия на основе ПЭО-400 для замораживания эритроцитов, лейкоцитов и ядродержащих клеток костного мозга (ЯСККМ).

Состав криоконсерванта: ПЭО-400, 15 %; NaCl, 1 %; вода для инъекций — до 100 мл. pH раствора доводят трис-буфером до 7,0–7,2. Криозащитная эффективность данного монокриоконсерванта обнаружена для эритроцитов, лейкоцитов, клеток костного мозга мышей и клеток донорского костного мозга человека (сохранность клеток достигает 90–92 %). Время эквilibрации в криоконсерванте достигает порядка 15–30 мин. Замораживали по двухэтапной программе до -196°C . Размораживали в водяной ванне при $+42^\circ\text{C}$. Отмывание ПЭО-400 не требовалось из-за отсутствия токсичности у 15–20 % растворов вещества [3].

М. И. Шраго и соавт. [6] установили, что механизм криозащитного действия ПЭО зависит от молекулярной массы полимера: ПЭО с м. м. до 400 обладают эндоцеллюлярным действием, а пробы высокомолекулярных ПЭО — свойствами экзоцеллюлярных криопротекторов. Это позволило в дальнейшем Н. С. Пушкарю и соавт. [3] ввести ПЭО-400 в группу хладоограждающих соединений, обладающих смешанным (эндо- и экзоцеллюлярным) действием. М. М. Брук и соавт. [7], Л. А. Гайсенюк [8] выяснили, что ПЭО при парентеральном введении является малотоксичным веществом, а при однократном в/в введении животным в дозе 5 мл/кг не приводит в их организме к каким-либо изменениям токсического характера. Существует возможность негативного влияния ПЭО на плазматические мембраны при температурах $+18^\circ\text{C}$ и выше во время удаления его из деконсервированных клеток. Если контакт клеток с криопротектором проводится в условиях гипотермии ($0\div+4^\circ\text{C}$), негативного действия ПЭО-400 на форменные элементы крови не наблюдается. Выяснено, что 20–40 % растворы ПЭО-1000 ПЭО-4000 обеспечивают сохранность 80–98 % клеток. Однако эритроциты, восстановленные после размораживания, все же имеют различные повреждения [8]. Показатели LD_{50} для ПЭО-400 не установлены.

Криозащитный эффект ПЭО заключается в его способности стабилизировать молекулы воды. Он может способствовать сохранению структуры биополимеров мембран в процес-

се замораживания — отогревания, изменять характер кристаллизации водного раствора с образованием аморфного льда.

Монокриоконсервант смешанного действия на основе ГМБТОЭМ для замораживания ЯККМ.

Химическая формула ГМБТОЭМ — $(\text{НОСН}_2\text{СН}_2)_2\text{НСОHN}(\text{СН}_2)_6$. Синтез ГМБТОЭМ впервые осуществил в 1974 г. В. П. Архиреев с соавт. (А.с. № 419617) [1]. Криопротекторные свойства ГМБТОЭМ (рабочее название А-378), имеющего м. м. 378, открыл Е. П. Сведенцов (патент РФ № 3016824 [2]). Установлена ЛД_{50} , равная $15,5 \pm 0,6$ г/кг массы белой лабораторной мыши, что значительно ниже, чем у других известных криопротекторов. На базе ГМБТОЭМ разработан криоконсервант смешанного действия.

Состав монокриоконсерванта: ГМБТОЭМ, 40 г; лимонная кислота, 1 г; динатриевая соль ЭДТА, 0,1 г; бидистиллированная вода — 100 мл. Стерилизуют автоклавированием 30 мин при 120 °С и 1,2 атм. рН криозащитного раствора 7,0–7,4.

Монокриоконсервант смешивают с концентратом ЯККМ 1 : 1. Экспозиция при +4 °С составляет 20 мин. Суспензию замораживают по 3-этапной программе: на первом этапе со скоростью 1 °С/мин до –8 °С, на втором — 10 °С/мин до –40 °С, на третьем — 20 °С/мин до –140 °С и затем переносят в хранилище с жидким азотом. Число сохранившихся ЯККМ составляет $91,5 \pm 1,8$ %, из которых эозинорезистентных — $80,3 \pm 4,4$ %. При в/в введении вещество не требует отмывания от размороженной клеточной суспензии.

Дальнейшие исследования свойств криоконсерванта на основе ГМБТОЭМ были продолжены учениками Е. П. Сведенцова [1]. Так, в лаборатории консервирования крови и тканей ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России и лаборатории криофизиологии крови Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (Коми НЦ УрО РАН) были синтезированы криоконсерванты «Гекмолит», «Кримолит», «Кримолит-М», «Кримолит-Ф» и другие, в которых хладоограждающим веществом представлен самый малотоксичный из известных хладозащитных веществ криопротектор ГМБТОЭМ, ЛД_{50} которого составляет $15,5 \pm 0,6$ г/кг мыши [1].

Монокриоконсервант смешанного действия «Кримолит» на основе ГМБТОЭМ для замораживания тромбоцитов при –196 °С.

Название криоконсерванта «Кримолит» утверждено приказом Минздрава № 1509 [9]. Согласно Патенту России № 1561227, в состав раствора включены: ГМБТОЭМ, 10 %; лимонная кислота, 1,1 %; динатриевая соль ЭДТА, 0,1 %; вода для инъекций до 100 мл. рН раствора 4,5–5,5. Стерилизуют автоклавированием при 120 °С и 1,2 атм 30 мин. Срок хранения при +4 °С составляет 2 года. Смешивают с тромбоцитным концентратом (ТК) 1 : 1. Замораживают по линейной программе до –196 °С. После размораживания в водяной ванне при +36 — +38 °С в течение 10 сек сохраняется 85–95 % кровяных пластинок, у 47,2–95 % сохраняется функциональная полноценность. Клинические испытания проведены с положительными результатами в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России, ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России и ВМА им.С.М. Кирова.

Монокриоконсервант смешанного действия «Кримолит-М» на основе ГМБТОЭМ для замораживания тромбоцитов при –80 °С.

Раствор «Кримолит-М» включает: ГМБТОЭМ безводная х. ч., 10 г; лимонная кислота, безводная х. ч., 1,1 %; динатриевая соль ЭДТА, 0,1 %; вода для инъекций до 100 мл, рН раствора 4,5–5,5. Стерилизуют автоклавированием при 120 °С и 1,2 атм 30 мин. Срок хранения при +4 °С составляет 2 года. Смешивают с ТК 1 : 1. Замораживают до –80 °С по линейной или экспоненциальной программе в двух электроморозильниках последовательно на –30 °С и –80 °С. После размораживания в водяной ванне при +38 °С в течение 44–60 сек до +2 — +4 °С сохраняется 83–94 % кровяных пластинок, у 48,2–93 % сохраняется функциональная полноценность.

Усовершенствованный криоконсервант «Кримолит-Ф» на основе ГМБТОЭМ и фумарата натрия для замораживания тромбоцитов при –40 °С.

Для повышения эффективности криоконсерванта за счет быстрого восстановления энергетических процессов в тромбоцитах, снижения токсичности в раствор были введены антигипоксанта фумарат натрия и антикоагулянт лимонная кислота. В итоге состав раствора «Кримолит-Ф» стал следующим: ГМБТОЭМ, 10 %; фумарат натрия, 1,9 %; лимонная кислота, 1,0 %; вода для инъекций до 100 мл, рН раствора 5,5–6,5. Стерилизуют автоклавированием при 1,2 атм 30 мин. ТК смешивают с «Кримолит-Ф» 1 : 1 в пластикат-

ном контейнере «Компопласт 300». Эквивалентная при комнатной температуре не превышает 20 мин, после чего клетки погружают в спиртовую ванну, охлажденную до -28°C на 15 мин, а затем в камеру электроморозильника на срок до 4 мес при температуре -40°C . Метод обеспечивает сохранность 87,4 % тромбоцитов. Переливание аутологичных размороженных ТК подопытным животным не вызывало у них каких-либо посттрансфузионных реакций или осложнений.

Монокриоконсервант смешанного действия на основе ГМБТОЭМ для замораживания концентрата лейкоцитов при -80°C .

Монокриоконсервант создан в ФГБУН Кировский НИИГиПК ФМБА России С. В. Утемовым [10]. Наилучшие результаты получены при использовании **раствора следующего состава**: ГМБТОЭМ, 30 %; лимонная кислота, 0,75 %; бидистиллированная вода до 100 мл, pH раствора 7,2. Стерилизуют автоклавированием при 120°C и 1,2 атм 30 мин. Срок хранения при $+4^{\circ}\text{C}$ составляет 2 года. Смешивают с КЛ 1 : 1. Замораживают по экспоненциальной программе: первоначально выдерживают в течение 25 мин при температуре адаптации $-28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, затем переносят в электроморозильник на -80°C на хранение до 12 мес. Разработанный криоконсервант обеспечивает высокую морфологическую ($87,3 \pm 3,3\%$) и выраженную функциональную ($52,5 \pm 10,2\%$) сохранность лейкоцитов, которые не требовали отмывания от ГМБТОЭМ.

В результате проведенных биологических исследований установлено, что разработанный монокриоконсервант для лейкоцитов стабилен в процессе замораживания-отогревания и безвреден для реципиента.

Монокриоконсервант смешанного действия на основе ГМБТОЭМ и фумарата натрия при замораживании лейкоцитов при -40°C .

Состав криоконсерванта: ГМБТОЭМ, 30 %; фумарат натрия, 2,8 %; лимонная кислота, 0,06 %; бидистиллированная вода-остальное, pH раствора 7,0–7,4.

Смешивают с ЛК 1:1, выдерживают при комнатной температуре в «Компопласт 300» до 20 мин. Замораживают в 3 этапа: на первом этапе — со скоростью $7-8^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до точки кристаллизации, на втором — $1-2^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до температуры -28°C , на третьем — $3-4^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до -40°C . Лейкоциты хранят в электро-

морозильнике фирмы Derby (Дания) в течение 30 суток. Клеточную взвесь размораживают в водяной ванне при $+38^{\circ}\text{C}$ в течение 45–60 сек при интенсивном покачивании биоконтейнера до температуры суспензии $+2 - +4^{\circ}\text{C}$. К данному времени сохраняется 87,3 % лейкоцитов, из которых 61,9 % имеют неповрежденную мембрану, 94,5 % нейтрофилов проявляют фагоцитарную активность и имеют высокий (в 3,5 раза выше исходного уровня) окислительно-восстановительный метаболизм.

Биологические исследования криоконсерванта не выявили морфологических и функциональных изменений у подопытных лабораторных животных и показали перспективность данного метода криоконсервирования лейкоцитов.

Монокриоконсервант смешанного действия на основе ГМБТОЭМ и сукцината 3-окси-6-метил-2-этиленпиридина (ГОИ-ПЭП) для замораживания лейкоцитов при -20°C .

Впервые в криобиологической практике для биологических и медицинских лабораторий создан метод сохранения лейкоцитов в полноценном состоянии при -20°C . Оптимальным определен **следующий состав криоконсерванта**: ГМБТОЭМ, 28 %; сукцинат ГОМЭП, 0,15 %, вода для инъекций до 100 мл, pH раствора 7,0–7,4 [2].

Лейкоциты получали из крови доноров-добровольцев. В выделенные концентраты лейкоцитов (ЛК) вносили указанный монокриоконсервант в соотношении 1 : 1, выдерживали при комнатной температуре в пластиковом контейнере «Компопласт 300» до 20 мин. Клеточную взвесь замораживали до -20°C , после чего переносили в электроморозильник фирмы Derby (Дания) для хранения на протяжении до 90 суток. Клеточную взвесь размораживают в водяной ванне при $+38^{\circ}\text{C}$ в течение 45–60 сек при интенсивном покачивании биоконтейнера до температуры суспензии $+2 - +4^{\circ}\text{C}$. В размороженной суспензии сохраняется 88,5 % лейкоцитов, из которых 62,9 % имеют неповрежденную мембрану, 93,9 % нейтрофилов проявляют фагоцитарную активность и окислительно-восстановительный метаболизм. Биологические исследования криоконсерванта не выявили морфологических и функциональных изменений у подопытных лабораторных животных и показали перспективность данного метода криоконсервирования лейкоцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Сведенцов Е. П.* Криоконсерванты для живых клеток. — Сыктывкар, 2010. — 80 с.
2. *Пушкарь Н. С., Белоус А. М.* Введение в криобиологию. — Киев: «Наукова думка», 1975. — 343 с.
3. *Пушкарь Н. С., Шраго М. И., Белоус А. М. и др.* Криопротекторы. Киев: «Наукова думка», 1978. — 204 с.
4. *Шраго М. И., Гучок, В. М., Калугина Ю. И., Калинина Л. А.* О некоторых путях создания криопротекторов // Пробл. гематологии и трансфузиологии. — 1981. — Т. 26. — № 3. — С. 8–12.
5. *Glauter C., Talbot T. R.* Some studies on freezing and thawing of human erythrocytes. — Amer. J. Sci., 1956, 231, № 1005, p.75–82.
6. *Шраго М. И., Тимченко В. Г., Бредихина Л. П. и др.* Низкотемпературное консервирование эритроцитов с криоконсервантом полиэтиленоксидом // Механизмы криоповреждения и криозащиты биологических культур. — Киев: «Наукова думка», 1977. — С. 47–48.
7. *Брук М. Н., Пушкарь Н. С., Шкурко В. К.* К влиянию полиэтиленоксида на организм животных // Научные труды Харьковского мед. института, 1968. — Вып. 78. — С. 18–22.
8. *Гайсенюк Л. А.* Изучение полиэтиленоксида-400 при низкотемпературном консервировании и трансплантации костного мозга в онкологической клинике: Автореф. дис. канд. мед. наук. — Харьков, 1972. — 17 с.
9. Приказ Минздрава СССР от 30.12.1983 № 1509 «О дальнейших мерах по совершенствованию порядка оформления разрешения к медицинскому применению и передачи для промышленного производства новых лекарственных средств». И. — 1983.
10. *Утемов С. В.* Низкотемпературное (–80°C) консервирование лейкоцитных концентратов (экспериментальное исследование): Автореф. дисс. канд. мед. наук. — СПб., 2005. — 23 с.

**Костяев А. А.¹, Утёмов С. В.¹, Андреев А. А.¹, Полежаева Т. В.², Мартусевич А. К.³,
Исаева Н. В.¹, Шерстнев Ф. С.¹, Ветошкин К. А.¹, Калинина Е. Н.¹, Князев М. Г.¹**

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Сыктывкар

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кировская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Киров

**ЧЕТЫРЕХКЛАССНАЯ СИСТЕМАТИЗАЦИЯ БИОКРИОКОНСЕРВАНТОВ
IV КЛАСС ХЛАДООГРАЖДАЮЩИХ РАСТВОРОВ — КОМБИНИРОВАННЫЕ
КРИОКОНСЕРВАНТЫ**

**Kostyaev A. A.¹, Utyomov S. V.¹, Andreev A. A.¹, Polezhaeva T. V.², Martusevich A. K.³, Isaeva N. V.¹,
Sherstnyov P. S.¹, Vetoshkin K. A.¹, Kalinina E. N.¹, Knyazev M. G.¹**

¹ Federal State Budget institution of Science «Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency», Kirov

² Federal State Budgetary Institute of Physiology of the Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar

³ Federal State Budgetary Institution of Higher Professional Education «Kirov State Medical Academy» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Kirov

**A FOUR CLASS SYSTEMATIZATION OF BIOCRYOCONSERVANTS.
The IV class of cold preserving solutions — combined cryoconservants**

Резюме. Представлены комбинированные криоконсерванты. Рецепттура криоконсервантов IV класса базируется на основе би- (двух) криопротекторов I и II классов или I и III классов. В статье рассматривается структура, некоторые физико-химические, биологические, токсикологические и хладозащитные свойства криопротекторов комбинированного действия. Показано использование криоконсервантов IV класса в практике низкотемпературной консервации эритроцитов, гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), тромбоцитных и лейкоцитных концентратов (КТ, КЛ).

Ключевые слова: криопротекторы, криоконсерванты комбинированного действия.

Summary. The combined cryoprotectants are represented. The formulation of IV class solutions is based on bi-cryoprotectants of class I and II or I and III classes. The paper highlights some of the physical and chemical, biological, toxicological and pharmacological properties of cryoprotectors of combined action. The use of IV class cryoconservants in practice of low temperature conservation of erythrocytes, hematopoietic stem cells (HSCs), platelets and leucocyte is shown.

Key words: cryoprotectants, cryoconservants combined action.

Введение. Предварительные результаты, полученные при замораживании безъядерных и ядерных клеток крови (ЯКК) и костного мозга (ЯККМ) под защитой криоконсервантов I — II и III классов, показывают, что в большинстве случаев эти вещества обеспечивают стабильный положительный протекторный результат. В результате усовершенствования этапов технологии низкотемпературного консервирования (ТНТК) различных биообъектов переливания криоконсервиро-

ванных компонентов крови и костного мозга получили широкое применение в комплексной терапии больных гемобластозами и с патологией иммунной системы. Успехи, достигнутые в трансфузионной криобиологии, стали также возможны за счет усовершенствования рецептур моно- и бикриоконсервантов, в которых основной составной частью, предупреждающих повреждение структур биологических систем живых клеток при их замораживании-отогреве, являются криопротек-

торы внутри-, внеклеточного и смешанного действия [1].

Ранее отмечалось, что эффективные («сильные») криопротекторы в абсолютном большинстве представляют собой «чуждые» для тканей человека субстанции, контакт с которыми несет риски развития либо обратимых изменений («псевдотоксический эффект»), либо более стойких повреждений на клеточном или организменном уровне физико-химической природы [2].

С целью устранения возможного отрицательного воздействия криопротекторов на клеточные структуры, повышения их защитных свойств на этапах ТНТК биологических объектов, облегчения течения репаративных процессов после стрессорных воздействий и восстановления функциональной активности, криобиологии посчитали перспективным направление по изучению эффективности комбинированных криоконсервантов («коктейлей») с включением в их состав дополнительных ингредиентов из солей органических и неорганических кислот, углеводов, белков плазмы крови, биологически активных веществ и других компонентов [1, 2, 3]. Состав комбинированных криоконсервантов по причине видоспецифичности биологического материала варьирующ: экзо- и эндоцеллюлярные криопротекторы, антиоксиданты и стабилизаторы биологических мембран (витамин Е, глутатион восстановленный, сывороточный альбумин и др.). Кроме того, в состав раствора для замораживания IV класса вводится какой-либо антикоагулянт (например, ЭДТА Na₂, цитрат натрия и др.) для предотвращения необратимой агрегации клеток. В составе консервантов часто используют предшественники нуклеиновых кислот (инозин, аденин) в комбинации с фосфатами и глюкозой, которые способствуют активации восстановительных процессов [4, 5].

Целью работы явилось ознакомление широкого круга криобиологов с основными компонентами рецептурных прописей криоконсервантов комбинированного действия для замораживания компонентов крови и костного мозга.

Комбинированный криоконсервант «Гемжел» на основе глицерина и ПВП для замораживания ГСК костного мозга при -196 °С.

Разработан в ГНЦ РАМН [6]. **Криоконсервант «Гемжел»** включает: высокоочищен-

ный глицерин, 66 мл; поливинилпирролидон (ПВП) с м. м. 12600 ± 2700, 70 г; динатриевая соль ЭДТА, 1 г; раствор желатина медицинского 10 % для инъекций, 200 мл; натрий цитрат трехзамещенный, 10 г; гемодез — до 1000 мл. рН раствора 7,0–7,4.

Препарат нетоксичен, апирогенен. Стерилизуют фильтрацией через Millipore с диаметром пор 0,22 мкм и асептично фасуют в стеклянные флаконы по 100–250 мл. Приготовленный «Гемжел» добавляют в костномозговую взвесь 1 : 1, осторожно перемешивают, выдерживают при комнатной температуре до 30 мин, с помощью системы для переливания крови с фильтром переводят по 120 мл в криоконтейнеры емкостью 160 мл, герметизируют, паспортизируют и направляют для замораживания. Охлаждение проводят по двухступенчатой программе: на первом этапе — со скоростью 1 °С/мин до 9 °С, на втором — 10 °С/мин до -185 °С, после чего переносят в хранилище с жидким азотом (-196 °С), в котором хранят более 15 лет. Процесс замораживания продолжается в течение 43–45 мин. Контейнеры с замороженной костномозговой взвесью помещают в водяную баню вместимостью 20 л с температурой 39 °С – 40 °С и подвергают энергичному покачиванию в течение 1 минуты. Через 7 лет криоконсервирования в этих условиях сохраняются жизнеспособными 71,4 % ЯККМ и 78,3 % ГСК КМ [6].

Комбинированные криоконсерванты на основе глицерина и препаратов желатина для сохранения гранулоцитов в состоянии холодового гипобиоза (-10 °С).

Разработаны Е. П. Сведенцовым в 2004 г. в Институте физиологии Коми научного центра УрО РАН [1]. Для защиты клеток от неблагоприятных факторов холодового стресс-воздействия оптимальными показали себя рецепты № 3 и № 7.

Криоконсервант № 3 включает следующие компоненты: высокоочищенный глицерин, 7 %; модежель, 85,6 %; сукцинат гидроксиметилэтилпиридина, 0,3 %; цитрат натрия, 1,4 %; вода для инъекций до 100 мл.

Криоконсервант № 7 имеет следующий состав: высокоочищенный глицерин, 7 %; желатиноль, 70 %; сукцинат гидроксиметилэтилпиридина, 0,3 %; лимонная кислота, 1 г; трилон Б, 0,1 г; вода для инъекций до 100 мл. рН раствора доводят до 7,0–7,4 10 н каплями водного гидроксида натрия.

Каждый раствор смешивают с КЛ в соотношении 1:1, выдерживают 20 мин в контейнере «Компопласт 300» при комнатной температуре, затем переносят в ванну с 45 % этиловым спиртом, охлажденным до -10°C , на 40–45 мин (с раствором № 3) и 25–27 мин (с раствором № 7). Хранят в бытовом электрохолодильнике при -10°C в ванне, содержащей 45 % этиловый спирт. Отогревают в 10-литровой водяной ванне с температурой теплоносителя $+39^{\circ}\text{C}$ — $+40^{\circ}\text{C}$ и подвергают энергичному покачиванию в течение 2–4 сек. В указанных криоконсервантах гранулоциты не замерзают, входят в состояние холодого гипобиоза и через 9 суток после выхода из него сохраняют высокую способность к фагоцитозу ($76,7 \pm 5,0\%$ для раствора № 3 и $72,6 \pm 3,8\%$ для раствора № 7). Значительная часть функциональной активности клеток сохраняется на уровне 75,7 и 61,4 % соответственно).

Биологические испытания растворов показали, что криоконсерванты нетоксичны, апирогенны и не требуют отмывания от биобъекта [1].

Комбинированный криоконсервант на базе ГМБТОЭМ и ДМСО для замораживания лейкоцитов при -80°C .

Разработан Е. П. Сведенцовым и соавт. в 2003 г. в Институте физиологии Коми научного центра УрО РАН [2]. Лучшая сохранность лейкоцитов по функциональным и морфологическим характеристикам после замораживания до -80°C и отогревания клеток наблюдается после применения криозащитного раствора следующего состава: гексаметиленбистетраоксигидроэтилмочевина (ГМБТОЭМ), 22 %; диметилсульфоксид (ДМСО), 8 %; сукцинат ГОМЭП, 02 %, вода для инъекций до 100 мл. Криоконсервант смешивают с лейкоконцентратом (ЛК) в соотношении 1:1 и выдерживают 20 мин в контейнере «Компопласт 300» при комнатной температуре. Замораживают по нелинейной программе в течение 54–55 мин. Суспензию размораживают в водяной ванне при $+35^{\circ}\text{C}$ 35–50 сек до температуры содержимого биоконтейнера $+2$ — $+4^{\circ}\text{C}$. После размораживания через сутки сохраняется $96,8 \pm 4,2\%$ лейкоцитов, эозинорезистентных клеток — $88,6 \pm 7,3\%$. Фагоцитарная активность нейтрофилов составляет $75,5 \pm 8,5\%$. Те же показатели после размораживания ЛК спустя 180 суток составляют $89,3 \pm 6,4\%$, $91,0 \pm 5,1\%$ и $76,7 \pm 14,7\%$ соответственно.

Комбинированный криоконсервант на основе ГМБТОЭМ и α -пропиленгликоля для замораживания гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) костного мозга млекопитающих при низкой температуре.

Разработан в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России для замораживания ядерных клеток костного мозга (ЯККМ) с ГСК при температуре от -80°C до -90°C [2]. Лучшие результаты по морфологической сохранности и пролиферативной способности после размораживания ГСК получены с применением криозащитного раствора следующего состава: ГМБТОЭМ, 30 г; α -пропиленгликоль, 1 г; динатриевая соль ЭДТА, 0,1 г; лимонная кислота, 1 г. вода для инъекций до 100 мл, pH раствора — 7,0–7,38.

Криоконсервант смешивают с суспензией ГСК в соотношении 1:1 при комнатной температуре, выдерживают в течение 20 мин и замораживают по 3-ступенчатой программе: на первом этапе — $1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до -7°C , на втором — $10^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до -40°C , на третьем — $20^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до -80°C — -90°C . После отогревания контейнера с костномозговой взвесью при температуре воды $+39^{\circ}\text{C}$ в течение 20–25 сек до температуры биобъекта $+2^{\circ}\text{C}$ сохраняется 92 % ЯККМ. Предложенный криоконсервант нетоксичен, апирогенен, не требует отмывания его от размороженных ЯККМ.

Комбинированный криоконсервант на базе Гидроксиэтилкрахмала (ГЭК) и ДМАЦ для замораживания ядерных клеток крови (ЯКК) до температуры -80 ÷ -196°C .

Разработан в лаборатории консервирования крови и тканей ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России А. А. Костяевым, К. А. Ветошкиным и С. В. Утемовым в 2006 г. [2].

Криоконсервант имеет следующий состав: ДМАЦ (х.ч.), 3,5 мл; ГЭК (в составе «Инфукол ГЭК»), 46,3 мл; фосфатный буфер ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, моль), pH раствора 6,5–7,0.

При замораживании ЯКК до температуры -80°C и последующем отогревании обеспечивает сохранность 94,2–97,1 % функционально полноценных клеток. При замораживании до температуры -196°C и последующем отогревании обеспечивает сохранность 92,7–97,8 % функционально активных клеток.

Заключение. Анализ криобиологической литературы за последние 50 лет по развитию методов длительного сохранения вне орга-

низма человека в биологически полноценном состоянии клеток крови и костного мозга показывает, что исследователям удалось найти высокоэффективное направление в решении этой проблемы. Им оказалось замораживание биологических объектов при низких и ультранизких температурах. В основу исследований были положены принципиально новые биокриотехнологии, новые способы замораживания тканей, подбор, синтез и применение органических веществ, получивших название криопротекторов разного механизма действия, их комбинации с улучшающими добавками, позволяющих оптимизировать состояние отдельных звеньев физиологических и метаболических систем, подвергнутых замораживанию и отогреву [2].

Приведенные данные показывают, что в проблеме консервирования компонентов крови и костного мозга имеются определенные успехи в основном при использовании низких и ультранизких температур. Открыт малотоксичный криопротектор смешанного

действия ГМБТОЭМ, не требующий отмывания. Предложенные учеными рецепты комбинированных криоконсервантов на основе ГМБТОЭМ вселяют у криобиологов оправданный оптимизм. Однако, несмотря на достигнутые успехи в трансфузионной криобиологии, многие ее аспекты остаются открытыми и требуют дальнейших исследований. Остается актуальным поиск универсального для различных клеток и тканей криопротектора, а также разработка эффективных технологий низкотемпературного консервирования биообъектов в нетоксичных криоконсервантах при широком диапазоне отрицательных температур. Определенные надежды в снижении рисков посттрансфузионных осложнений криопротекторного генеза исследователи связывают с использованием на доклиническом этапе различных методов биокристалломики с целью индивидуального подбора оптимального для больного криопротектора и рецепта криоконсерванта на его основе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Е. П. Сведенцов. Криоконсерванты для живых клеток. — Сыктывкар, 2010. — 80 с.
2. А. М. Белоус, М. И. Шраго, Н. С. Пушкарь. Криоконсерванты. — Киев: «Наукова думка», 1979. — 198 с.
3. Е. М. Корниенко, В. А. Бондаренко. Перспективность использования комбинированных криопротекторов при замораживании компонентов крови одноступенчатым способом при температуре -196°C // Проблемы криобиологии. 2008. Т. 18, № 2. — С. 248.
4. K. R. Diller. Intracellular freezing: effects of extracellular supercooling // Cryobiology. 1975. Vol.12, № 5. — P. 480–485.
5. J. Carrol, M. J. Wood, D. G. Whittinham. Normal fertilization and development of frozen-thawed mouse oocytes: protective action of certain macromolecules // Biol. Reprod.1993. Vol. 48. — P. 606–612.
6. А. Г. Федотенков и др. Комбинированный ограждающий раствор, не требующий отмывания перед трансплантацией костного мозга // Материалы симпозиума по эффективности трансплантации костного мозга в клинике, актуальным вопросам гематологии и трансфузиологии. — Ташкент: «Медицина» УССР, 1973. — С. 55–57.
7. Р. В. Тюрин. Криоконсервирование костного мозга под защитой 3 % раствора диметилацетамида. Автореф: дис. канд. мед. наук. — СПб., 1996. — 25 с.

Исаков Д. В.¹, Исаков В. А.²¹ ФГБУ «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН,² ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург

НОВЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА (Обзор)

Isakov D. V.¹, Isakov V. A.²¹ Federal State Budgetary Institution "Research Institute For Experimental Medicine",² First Pavlov State Medical University of St. Petersburg

NEW ASPECTS IN PATHOGENESIS OF HERPES SIMPLEX INFECTION (Review)

Резюме Представлены новые сведения об иммунопатогенезе герпеса. Герпесвирусные инфекции вызывают дисбаланс системы интерферонов, угнетение клеточных и фагоцитарных реакций организма.

Литическая фаза инфекции. Показаны пути распространения вируса, даны сведения о новом типе резидентных Т-клеток-памяти (resident memory, Trm).

Латентная фаза ВПГ-1-инфекции, механизмы реактивации вируса герпеса.

Ключевые слова: иммунопатогенез герпеса, Литическая и латентная фазы инфекции.

Summary Here we present new data on herpes immunopathogenesis. Herpesvirus infections cause imbalance in interferon system, suppress cell and phagocytic immune reactions in the body.

Lytic phase of herpesvirus infection. Ways of virus spreading are described in the paper, with showing a novel type of memory T cells known as resident memory (Trm).

Latent phase of HSV-1 infection, and mechanisms for herpesvirus reactivation.

Key words: immunopathogenesis of herpes infection, lytic and latent phases of herpes infection.

В своей практической деятельности врачи многих специальностей встречаются с заболеваниями, вызванными вирусами семейства Herpesviridae. В настоящее время известно 8 антигенных серотипов вирусов герпеса: вирусы простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1 и ВПГ-2), ветряной оспы — опоясывающего герпеса (ВВО-ОГ), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), вирусы герпеса человека 6, 7 и 8-го типов (ВГЧ-6, ВГЧ-7 и ВГЧ-8). Герпесвирусы (ГВ) широко распространены в человеческой популяции, они пантропны и способны поражать практически все органы и системы организма человека, вызывая латентную, острую и хроническую формы инфекции.

ВОЗ в 1999 году объявила о пандемии герпетической инфекции в мире (ВОЗ, 2004). Считают, что 2–12% инфицированных страдает рецидивирующими формами герпеса, генитальный герпес (ГГ) у 6–10% взрослых.

Среди онкологических больных у 50% лиц отмечены рецидивы герпетической инфекции (ГИ), при ВИЧ-инфекции и СПИДе — в 95–100% случаев [1,3,7]. 38% пациентов с ГГ имеют 6 и более рецидивов в год (тяжелое течение), у 60% больных по 1–5 рецидивов [4, 7].

Следует отметить возможную роль ВПГ-2 (совместно с вирусами папилломы человека, ЦМВ, хламидиями и микоплазмами) в развитии неопластических процессов у человека, в частности, рака шейки матки и рака предстательной железы. Считается, что в этом случае ВПГ-2 может выступать в качестве кофактора канцерогенеза, инициируя развитие дисплазии и поддерживая ее в состоянии стабилизации. Вирусы герпеса индуцируют процессы атеросклероза, где ВПГ, возможно, выступает в ассоциации с цитомегаловирусом. Показано неблагоприятное, а порой и фатальное влияние ГВ на течение беременности и родов,

патологию плода и новорожденных. При беременности в связи с подавлением клеточного иммунитета возможно возникновение диссеминации вируса с поражением последа и инфицированием плода. Оно может происходить как восходящим, так и гематогенным путем.

Количество больных клинически выраженными формами ГИ увеличивается каждый год. На Западе в 60–80-е годы прошла «сексуальная революция», которая привела к появлению ВИЧ-инфекции и к пятнадцатикратному увеличению заболеваемости герпесом половых органов, в связи с чем ГИ приобрела особую актуальность [6]. Установлено, что вирусы герпеса могут активировать геном вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), находящийся в стадии провируса, и являются кофактором прогрессирования ВИЧ-инфекции и СПИДа [6]. Поэтому ГИ является одной из СПИД-индикаторных инфекций. Около 42 % ВИЧ инфицированных взрослых приходится на долю женщин, и эта тенденция постоянно увеличивается. Следует отметить, что ВИЧ инфицированные женщины находятся в репродуктивном возрасте, что, безусловно, сказывается на вероятности рождения ими ВИЧ-инфицированных детей. В связи с пандемией ВИЧ/СПИД возросло значение других инфекций семейства ГВ: ВЭБ, опоясывающего герпеса, саркомы Капоши и других [5]. Показана также значительная роль вирусов семейства герпеса у онкогематологических больных [2,8,9].

Доказано, что активация ГВ у ВИЧ-инфицированных больных помимо общего усиления репликации ВИЧ сопровождается повышенным выделением вирионов ВИЧ в местах герпетических кожных высыпаний, которые не всегда имеют характерный для герпеса вид [13]. Наиболее важно то, что при этом могут образовываться частицы смешанного фенотипа — вирионы ВИЧ, “одетые” в оболочку герпеса. Такие “закамуфлированные” частицы в отличие от обычных вирионов ВИЧ способны инфицировать различные типы клеток, включая эпителиальные клетки и фибробласты, давая при этом продуктивную ВИЧ-инфекцию, иными словами становится возможным заражение ВИЧ через контакты с кожей и слизистой оболочкой.

Сегодня многие теоретические и практические вопросы простого герпеса остаются не решенными. В нашем сообщении пред-

ставлены новые сведения об иммунопатогенезе ГИ.

Литическая фаза инфекции. Несмотря на то что различные возбудители, принадлежащие к разным видам, имеют различное строение генома (вирусы, бактерии, простейшие), тем не менее, их первичное распознавание иммунной системой, как носителей чужеродной биологической информации, происходит благодаря наличию у них эволюционно консервативных структур, т. н. патоген-ассоциированных молекулярных образов (pathogen-associated molecular patterns, далее как PAMPs). Рецепторы, которые представлены как в клетках иммунной системы так и в неиммунных клетках организма, объединены в семейство образраспознающих рецепторов (pattern recognition receptors, далее как PRRs). Семейство PRR представлено различными белками, которые экспрессируются как на плазмалемме клеток, так и внутриклеточно (эндосомы, цитоплазма). После распознавания PAMPs рецепторы PRR запускают различные молекулярные каскады, которые приводят к активации различных звеньев системы врожденного иммунитета (продукция интерферона — ИФН I типа, т. е. ИФН- α и ИФН- β , продукция цитокинов, активация НК клеток) [14].

Одним из ключевых событий в индукции клеточного противовирусного иммунного ответа является распознавание антигена CD4⁺ и CD8⁺ Т клетками. Поскольку такое распознавание происходит в ходе презентации антигена антиген-презентирующими клетками (АПК), возникает вопрос об их происхождении и анатомической локализации самого процесса. В зависимости от пути инфицирования распространение вируса может осуществляться несколькими путями. Однако они могут быть неодинаково эффективны по способности индуцировать иммунный ответ. Кратко рассмотрим их на примере ВПГ-инфекции [подобно — 4].

1) Перенос вируса с током лимфы в дренирующий лимфатический узел (ЛУ): инъекционный путь инфицирования ВПГ-1 (при вакцинации может обнаруживаться в дренирующем ЛУ через 30 мин, тогда как после эпикутанного нанесения он обнаруживается через 2–8 часов). В дальнейшем происходит презентация антигена и активация специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т клеток [13].

2) Перенос вируса тканевыми дендритными клетками (ДК) в дренирующий ЛУ для

презентации антигена Т клеткам: инъекционный путь — благодаря крайне быстрой кинетике оттока лимфы мигрирующие ДК остаются незадействованными. Напротив, при эпикутанном нанесении ДК кожи обладают разной эффективностью миграции в дренирующий ЛУ. В частности, именно ДК глубоких слоев кожи, расположенных в толще дермы, но не клетки Лангерганса внешнего эпидермального слоя, способны транспортировать антиген в ЛУ. Однако дермальные ДК сами неспособны активировать CD8⁺ Т клетки, что указывает на наличие другого типа АПК. В ходе мукозного/слизистого пути инфицирования (нанесение на слизистую влагалища) мигрирующие тканевые ДК играют ведущее значение в активации Т клеток ЛУ. Отличия в роли типа ДК для активации Т клеток в ЛУ при развитии эпикутанной и мукозной ВПГ-инфекции могут быть обусловлены существенно большим количеством чувствительных клеток в эпителии по сравнению с кожными покровами.

3) Резидентные ДК лимфоузлов производят кросс-презентацию вирусного антигена: наконец, было установлено что при эпикутанном нанесении конечную активацию CD8⁺ Т клеток в ЛУ осуществляют резидентные ДК лимфоузлов, что достигается при так называемом “переносе антигена”. В случае ВПГ-1 инфекции полноценная стимуляция CD8⁺ Т клеток возможна, только если ей предшествовала активация дендритными клетками Th1 CD4⁺ Т клеток. В случае мукозного/слизистого пути стимуляция со стороны резидентных ДК оказывает существенно меньшее значение.

После того, как в ходе острой фазы (фаза экспансии) инфекции вирусный антиген достигнет дренирующего ЛУ и пройдет стадии процессинга и презентации в ДК, он способен вызывать активацию антиген-специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т клеток. На основании различных моделей инфекционных заболеваний у мыши было показано что данный процесс проходит ряд стадий. Рассмотрим их на примере мышей, инфицированных вирусом коровьей оспы (родственен вирусу кори): 1) инфицирование ткани (кожа); 2) миграция тканевых ДК с захваченным антигеном в дренирующий ЛУ; 3) презентация антигена Т клеткам; 4) пролиферация Т клеток *in situ*; 5) усиление экспрессии на Т клетках хоминг-рецепторов для миграции в инфицирован-

ную ткань (кожа); 5) миграция Т клеток в: а) инфицированные ткани (кожа), б) антиген-негативные ткани. Как видно из экспериментальных данных, в ответ на распознавание антигена Т клетки проходят стадию клональной экспансии, что приводит к многократному увеличению количества Т клеток-эффекторов и Т клеток-памяти (см. ниже), которые, собственно, и производят элиминацию инфицированных клеток-мишеней; последние обладают способностью к длительному самоподдержанию в отсутствие антигена *in vivo*. После этого их пролиферативная активность подвергается ограничению, что, вероятно, обусловлено как физическими ограничениями (объем ЛУ), так и наличием доступных ДК, поскольку после активации Т клетки, в особенности CD8⁺ Т клетки, элиминируют ДК. Помимо экспансии в ходе пролиферации запускается изменение фенотипа Т клеток, что, в частности, видно по индукции на них хоминг-рецепторов для миграции в инфицированную ткань (специфичность хоминг-рецепторов модулируется ДК, дренирующих разные лимфоидные и паренхиматозные ткани, а также иными факторами). Благодаря этому Т клетки способны обеспечивать непосредственный ткане-специфический иммунный контроль против патогенов. Кроме того, появление их в неинфицированных тканях предоставляет системную защиту для организма против возможной диссеминации возбудителя и/или повторного контакта с ним.

Одним из важных следствий развития протективного клеточного иммунитета является формирование долгоживущих CD4⁺ и CD8⁺ Т клеток-памяти. Наиболее наглядно данное правило отражено в применении вакцин (например, эпикутанное введение аттенуированного вируса коровьей оспы при вакцинации методом скарификации кожи успешно защищает человека против оспы, которая обычно развивается после интраназального или орофарингеального пути проникновения). Вместе с тем, системное введение вакцин (через кожные покровы, внутримышечно и т. д.) не всегда может достигать максимального профилактического (обусловленного формированием пула Т и В клеток-памяти) и терапевтического эффекта (обусловленного активацией преимущественно Т клеток-эффекторов), что может быть обусловлено особенностями иммунопатогенеза конкретного инфекционного процесса. Напротив,

использование вакцин направленного действия, нацеленных на формирование местного тканевого иммунитета, также может иметь важное значение [10, 11]. Это обусловлено тем, что в ходе острой фазы иммунного процесса происходит активация Т-клеток-предшественников, склонных по-разному экспрессировать хоминг-рецепторы как для миграции в лимфоидные ткани (ЛУ, селезенка) так и в нелимфоидные органы. На этом основании выделяют по меньшей мере два вида Т-клеток памяти: Т-клетки «центральной памяти» (T central memory, Tcm), преимущественно мигрирующие в лимфоидные ткани, а также Т-клетки «эффекторной памяти» (T effector memory, Tem), которые главным образом обнаруживаются в паренхиматозных тканях. Оба типа Т-клеток памяти имеют разный поверхностный фенотип, а также склонность к продукции защитных факторов.

В этой связи особого внимания заслуживает упоминание о новом типе резидентных Т-клеток памяти (resident memory, Trm), представленном как и Tem, в нелимфоидных тканях, однако лишенном способности к миграции. Первое упоминание о них было получено на мышинной модели ВПГ-инфекции кожи, когда показали, что после установления контроля за репликацией вируса во время острой фазы ВПГ-инфекции CD4⁺ и CD8⁺ Trm длительно обнаруживались как в эпидермисе, так и в сенсорных ганглиях на протяжении латентной фазы заболевания. Важно отметить, что аналогичные долгоживущие CD8⁺ Т-клетки у человека также обнаружены внутри сенсорных ганглиев (тройничный ганглий) в непосредственной близости к латентно инфицированным нейронам. Более того, CD8⁺ Trm не обладали способностью к миграции за пределы нелимфоидных тканей, не подвергались смешиванию с пулом рециркулирующих Т-клеток памяти, обладали медленной гомеостатической пролиферативной активностью. Уникальность открытия заключалась в том, что CD8⁺ Trm обладали высокой протективной активностью. Вероятно, ВПГ-специфичные CD8⁺ Trm в эпидермисе и сенсорных ганглиях могут служить самой первой линией контроля за реактивированным вирусом. Аналогичные CD8⁺ Trm также недавно были описаны в тонком кишечнике [13] и головном мозге [16]. Одной из интересных особенностей фенотипа CD8⁺ Trm в этих разных нелимфоидных тканях является экспрессия

у них интегрина CD103, который более типичен для клеток, мигрирующих в кишечник, и в меньшей степени — в кожные покровы. Возможно, что CD8⁺ Trm (и CD4⁺ Trm) представляют ранее не идентифицированный тип Т-клеток памяти, который может иметь важное значение в поддержании иммунного гомеостаза в нелимфоидных тканях организма.

Латентная фаза инфекции. Латентное состояние вирусов герпеса (ГВ) характеризуется практически полным отсутствием репликации вирусных генов и синтеза белков, выделения вирионов, а также персистенцией и обратимостью [15]. При этом вирусный геном обнаруживается в ядре и цитоплазме в виде эписом (не интегрирован в геном клетки, ассоциирован с нуклеосомами), как показано для большинства ГВ человека, так и в интегрированном в хромосомы виде (ВЭБ, ВГЧ-6). Механизмы, приводящие к реактивации транскрипции вирусного генома изучены недостаточно полно. Однако в отношении ряда вирусов семейства герпеса, имеющих особое эпидемиологическое значение, за последнее время были получены важные данные, позволяющие лучше понимать молекулярные особенности перехода вируса из состояния латентности в фазу реактивации. Неудивительно, что находясь в состоянии латентности вирус практически полностью «уходит» из-под иммунного надзора. Поэтому состояние латентности является ключевым событием в формировании персистентных герпесвирусных заболеваний. Наибольший прогресс в изучении состояния латентности был достигнут при изучении ВПГ-1, ВЭБ и ВГЧ-8.

ВПГ-1-инфекция. Поддержание ВПГ-1 в латентном состоянии представляет собой сложный процесс с задействованием различных регуляторных механизмов. Во время спорадической спонтанной реактивации ВПГ-1 в латентно инфицированных нейронах сенсорных ганглиев происходит выделение вируса в кровотоки, что приводит к повторному инфицированию эпителиальных тканей организма (фаза продуктивной, или литической репликации). Это может сопровождаться появлением клинической картины заболевания в очаге первичного инфицирования (область гениталий, эпителий и кожа губ и ротовой полости, роговица глаз), нередко протекающего с более тяжелым течением. Кроме того, реактивация вируса часто сопровождается асимптом-

ным течением, когда вирус может выделяться и инфицировать других лиц. Латентное состояние ВПГ-1 в нейронах может поддерживаться пожизненно, характеризуется обнаружением в ядрах вирусной РНК LAT (latency-associated transcript — транскрипт ассоциированный с латентностью), и полным отсутствием экспрессии генов литического цикла.

Латентное состояние вируса является обратимым, а пусковым механизмом к реактивации ВПГ-1 могут быть УФО-облучение, лихорадка, стресс, сниженный иммунный статус организма, повреждение нервов, а также различные инфекции. Как и в случае первичной ВПГ-1 инфекции особое значение для купирования рецидива имеют CD8⁺ Т клетки. На модели ВПГ-1 инфекции у мыши было показано, что CD8⁺ Т клетки могут полностью подавлять реактивацию вируса, что частично опосредовано продукцией ими ИФН-γ (некоторые нейроны рефрактерны к его действию). Кроме того, для иммунного контроля важен был также продукт литических гранул Т клеток, гранзим В [12]. В частности, было показано, что при распознавании на нейронах вирусных антигенов в комплексе с МНС-I молекулами CD8⁺ Т клетки секретировали в сторону нейронов литические гранулы с гранзимом В, что, однако, не сопровождалось гибелью нейронов. Установлено что гранзим В расщепляя продукт очень раннего гена ВПГ-1 под названием ICP4 (Infected cell protein 4 — белок 4 инфицированной клетки), который во время литической фазы инфекции обеспечивает транскрипцию ранних и поздних генов вируса. Другие компоненты литических гранул, гранзим А и перфорины, также вносят свой вклад в поддержание ВПГ-1 в состоянии латентности в инфицированных нейронах. Поскольку во время реактивации ВПГ-1 в нейронах специфические CD8⁺ Т клетки способны распознавать вирусные антигены в течение первых часов, то секреция ими гранзима В с последующей деградацией ICP4 приводит к подавлению транскрипции вирусных генов на самых ранних этапах его реактивации. Помимо ICP4 при реактивации ВПГ-1 из латентного состояния в ряде биоптатов также обнаруживается другой транскрипт очень ранних генов, ICP0. Наконец, недавно было показано, что устойчивость к апоптозу, вызванному гранзимом В, прямо ассоциирована с обнаружением в нейронах вирусной РНК под названием LAT, наиболее представленного транскрипта ВПГ-1,

который обнаруживается на всем протяжении состояния латентности в их ядрах [12]. Также полагают, что LAT может участвовать в поддержании промоторов генов литического цикла в обратимом репрессированном состоянии. Таким образом, экспрессия в нейронах вирусного анти-апоптозного фактора LAT во время реактивации латентного ВПГ-1, эволюционно возникшая для избегания иммунной атаки (подавление апоптоза вызванного гранзимом В), позволяет защищать нейроны от лизиса. Одновременно с этим гранзим В CD8 Т клеток (и НК клеток) производит деградацию вирусного белка ICP4, тем самым препятствуя транскрипции полного генома вируса, что приводит к поддержанию ВПГ-1 в состоянии латентности.

Важно отметить, что состояние латентности ВПГ-1 прямо ассоциировано с поддержанием нормального физиологического статуса в самих нейронах. В частности, оно обеспечивается за счет постоянной базальной передачи сигналов от NGF (nerve growth factor — фактор роста нервов), что определяет длительность поддержания ВПГ-1 в состоянии латентности. Важно отметить, что NGF присоединяется к своему рецептору в области окончаний аксонов, и затем подвергается ретроградному транспорту к телу нейрона. Поэтому повреждение аксонов (травма, ризотомия тройничного нерва) прерывает данный путь, что приводит к исчезновению передачи сигналов от NGF, и, как следствие, реактивации ВПГ-1. Вероятно, благодаря “противоречивому” эффекту NGF можно объяснить эффективность его применения в виде глазных капель при лечении герпетического кератита, устойчивого к лечению ацикловиром: очевидно, при таком методе назначения NGF может достигать аксонов тройничного нерва расположенных в области глазного яблока, и далее индуцировать сигналы, приводящие к подавлению литической репликации ВПГ-1.

Обычно инфицирование человека ВПГ-1 происходит в области слизистой оболочки губ или глаз. В ходе первичной острой инфекции вирус реплицируется местно в слизистом эпителии, после чего он способен достигать окончаний чувствительных нервов, расположенных под кожным покровом. Далее вирус достигает тел нейронов в тройничном ганглии, где в ряде клеток он запускает либо свою репликацию, либо входит в латентную стадию. Во время латентной фазы вирус находится

в неактивном состоянии в пределах тройничного ганглия, что сопровождается отсутствием обнаружения инфекционного вируса наряду с полным подавлением экспрессии вирусных генов за исключением LAT. Стрессовые ситуации приводят к периодам реактивации вируса, в ходе которых в некоторых нейронах отмечается транскрипция генов литической фазы вирусного цикла и репликация вирусной ДНК. В результате, происходит сборка новых вирионов, которые подвергаются об-

ратному транспорту по аксонам к первичному очагу инфекции. В итоге, в очаге исходного инфицирования снова обнаруживается инфекционный вирус, что в ряде случаев может сопровождаться появлением клинических повреждений, таких как herpes labialis [4,7].

Изучение молекулярных механизмов репродукции ВПГ позволит найти новые мишени для разработки эффективных лекарственных средств терапии герпеса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баринский И. Ф., Шубладзе А. К., Каспаров А. А. [и др.] Герпес. — М.: Медицина, 1986. — 206 с.
2. Вирусные инфекции у онкогематологических больных (патогенез, диагностика, клиника, профилактика и лечение) / под ред. К. М. Абдулкадырова. — СПб.: Роза мира, 2002. — 133 с.
3. Исаков В. А., Борисова В. В., Исаков Д. В. Патогенез и лабораторная диагностика герпеса: руководство для врачей. — СПб.: Лань, 1998. — 205 с.
4. Исаков В. А., Архипова Е. И., Исаков Д. В. Герпесвирусные инфекции человека (2-е изд., перераб., доп.): Руководство для врачей /Под редакцией профессора В. А. Исакова. — СПб., СпецЛит. 2013. — 670 с.
5. Макарова И. В. Клинико-лабораторные особенности герпетической инфекции и хронического гепатита С у больных ВИЧ/ СПИД. //Автореф. канд.дисс. СПб, 2011. — 23с.
6. Рахманова А. Г., Пригожжина В. К., Неверов В. А. Инфекционные болезни: руководство для врачей общей практики. — М.; СПб., 1995. — 302 с.
7. Самгин М. А., Халдин А. А. Простой герпес (дерматологические аспекты). — М.: МЕДпресс-информ, 2002. — 160 с.
8. Чеботкевич В. Н., Кайтанджан Е. И., Волкова С. Д. и др. Герпесвирусные инфекции и проблемы инфекционной безопасности гемотрансфузий у иммуносупрессивных больных. // Трансфузиология. 2012. Т. 13. № 1. С. 22–40.
9. Чеботкевич В. Н., Бессмельцев С. С., Киселева Е. Е. и др. Клинико-микробиологическая характеристика инфекций кровотока у онкогематологических больных. // Онкогематология. 2016. Т. 11. № 3. С. 58–67.
10. Belyakov I. M., Kuznetsov V. A., Kelsall B. et al. Impact of vaccine-induced mucosal high-avidity CD8+ CTLs in delay of AIDS viral dissemination from mucosa. Blood. 2006 Apr 15;107(8):3258–64.
11. Belyakov I. M., Isakov D. V., Zhu Q et al. A novel functional CTL avidity/activity compartmentalization to the site of mucosal immunization contributes to protection of macaques against simian/human immunodeficiency viral depletion of mucosal CD4+ T cells. J Immunol. 2007 Jun 1;178(11):7211–21.
12. Jiang X., Chentoufi A. A., Hsiang C. et al. The herpes simplex virus type 1 latency associated transcript (LAT) can protect neuronal derived C1300 and Neuro2A cells from Granzyme B induced apoptosis and CD8 T-cell killing. J Virol. 2010 Dec 22. [Epub ahead of print]; doi:10.1128/JVI.01791–10.
13. Masopust D, Choo D, Vezys V. et al. Dynamic T cell migration program provides resident memory within intestinal epithelium. J Exp Med. 2010 Mar 15;207(3):553–64.
14. Paludan S. R., Bowie A. G., Horan K. A. & Fitzgerald K. A. Recognition of herpesviruses by the innate immune system. Nat Rev Immunol. 2011 Feb;11(2):143–154.
15. Speck S. H., Ganem D. Viral latency and its regulation: lessons from the gamma-herpesviruses. Cell Host Microbe. 2010 Jul 22;8(1):100–15.
16. Wakim L. M., Woodward-Davis A, Bevan M. J. Memory T. cells persisting within the brain after local infection show functional adaptations to their tissue of residence. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Oct 19;107(42):17872–9.

**IV ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«ИНФЕКЦИИ И ИНФЕКЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ
В ГЕМАТОЛОГИИ И СЛУЖБЕ КРОВИ»**

(Санкт-Петербург, 20–21 октября 2016 г.)

СОСТАВ ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

Председатель оргкомитета:

Уйба В. В. руководитель ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор.

Заместители председателя оргкомитета:

Назаров В. Б. заместитель руководителя ФМБА России, доктор биологических наук, профессор;

Чечеткин А. В. директор ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;

Бессмельцев С. С. заместитель директора по научной работе ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;

Чеботкевич В. Н. руководитель лаборатории бактериологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;

Члены оргкомитета:

Эйхлер О. В. начальник Управления организации службы крови ФМБА России;

Данильченко В. В. руководитель научно-организационного отдела ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;

Капустин С. И. руководитель лаборатории биохимии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор биологических наук;

Минеева Н. В. руководитель лаборатории изосерологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор биологических наук, профессор;

Ругаль В. И. руководитель лаборатории по изучению лейкозов ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;

Волошин С. В. и. о. руководителя клинического отделения химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, кандидат медицинских наук;

Грицаев С. В. главный научный сотрудник клинического отделения химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук;

Солдатенков В. Е. руководитель клинического отделения хирургической гематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, кандидат медицинских наук;

Кайтанджан Е. И. ведущий научный сотрудник лаборатории бактериологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, кандидат биологических наук;

Бурyleв В. В. старший научный сотрудник лаборатории бактериологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, кандидат биологических наук.

Алексеева Е. А., Смирнова М. И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Станция переливания крови Федерального медико-биологического агентства в г. Екатеринбурге», г. Екатеринбург

**ОПЫТ ВНЕДРЕНИЯ АВТОМАТИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ
ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ДОНОРСКОЙ КРОВИ МЕТОДОМ ПЦР
НА РЕАГЕНТАХ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДИТЕЛЯ БЕЗ ПРИМЕНЕНИЯ МИНИПУЛОВ**

Введение. ФГБУЗ СПК ФМБА России в г. Екатеринбурге — учреждение службы крови, обеспечивающее компонентами крови федеральные учреждения Свердловской и Пермской областей, с объемом заготовки до 4000 л в год. В рамках «Программы развития массового добровольного донорства крови и её компонентов» в 2015 году Станция переливания крови получила оборудование для автоматического молекулярно-биологического тестирования донорской крови методом ПЦР. Это позволило отказаться от затрат на услуги субподрядной лаборатории, сократить сроки проведения тестирования компонентов с малым сроком годности и обеспечить полный контроль над процессом обеспечения инфекционной безопасности компонентов крови в пределах одного учреждения в соответствии с действующими требованиями СП 3.1.3112–13, СП 3.1.5.2826–10 и Постановления Правительства РФ от 31.12.2010 № 1230.

Материалы и методы. За период с 03.03.2015 по 31.08.2016 было протестировано 511 образцов в минипулах (до 5 образцов пуле) и 3026 индивидуальных образцов плазмы крови доноров. Все образцы исследовали методом ПЦР в день донации, в индивидуальных пробах. Тестирование образцов производилось с использованием наборов «РеалБест ВИЧ ПЦР», «РеалБест ВГС ПЦР», «РеалБест ВГВ ПЦР» (ЗАО «Вектор-Бест»). Выделение нуклеиновых кислот проводилось на станциях автоматической пробоподготовки TECAN Freedom EVO-2 с использованием реагентов «РеалБест Дельтамаг ВГВ, ВГС, ВИЧ» (ЗАО «Вектор-Бест»). Амплификация и учет результатов в режиме реального времени выполнялся на амплификаторе CFX96/C1000 производства «Bio-Rad».

Результаты. При тестировании донорской крови в формате минипулов, согласно рекомендациям производителя, был выявлен минипул из 5 образцов, который показал отрицательный результат ПЦР по всем трем инфекциям, однако содержал образец крови, в котором был обнаружен положительный результат исследования методом ИФА на HBsAg с коэффициентом позитивности 52,2 («Monolisa HBsAg Ultra», «Bio-Rad»). При исследовании единичных образцов из данного пула, был получен положительный результат ПЦР ВГВ в образце с положительным результатом ИФА. В целях повышения медицинской эффективности исследований методом ПЦР было принято решение обследовать все компоненты крови, не подлежащие карантинизации, в индивидуальных образцах без формирования минипулов. За период работы на полностью автоматическом оборудовании из 3026 образцов не было выявлено ни одного образца в периоде серонегативного окна (с положительным результатом ПЦР при отрицательных результатах ИФА).

Выводы. Выявление нуклеиновых кислот возбудителей гемотрансмиссивных инфекций в периоде серонегативного окна является достаточно редким событием, которое зависит от вирусной нагрузки в плазме крови донора, от чувствительности метода ПЦР и от формата тестирования. Для повышения медицинской эффективности исследований методом ПЦР при использовании недорогих реагентов отечественного производства и снижения трудоемкости тестирования за счет автоматизации пробоподготовки целесообразно отказаться от исследования образцов плазмы доноров в минипулах в пользу индивидуального формата тестирования.

Афиногенова А. Г.^{1,2}, Афиногенов Г. Е.², Мадай Д. Ю.²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Санкт-Петербург

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУННЫХ ПРЕПАРАТОВ КАК ИНГИБИТОРОВ БАКТЕРИАЛЬНОЙ АДГЕЗИИ

Введение. Попадание возбудителей сепсиса в общий кровоток происходит по механизму микроэмболизма — в местах стыка тромбированных участков микроциркуляторного русла, содержащих микробы, с участками, где циркуляция крови продолжается. Актуален поиск лекарственных препаратов, обладающих антиадгезивными свойствами.

Целью настоящего исследования являлась сравнительная оценка влияния коммерческих препаратов нормального иммуноглобулина человека (Россия), интраглобина и пентаглобина (Biotest, Германия) на адгезию референс-штамма *Staphylococcus aureus* 209P Oxford к фибробластам кожи эмбриона человека.

Материалы и методы. Для создания экспериментальной модели использовали 24-часовую культуру высокоадгезивного штамма *S. aureus* 209P Oxford в концентрации 10^8 КОЕ/мл. Работа выполнена на диплоидных клетках эмбриона человека — кожно-мышечных фибробластах (из коллекции клеточных культур ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ). Эксперимент составили 5 серий опытов, в 1-ую из которых добавляли препараты: 20 мг/мл иммуноглобулина человека нормального, или 50 г/л пентаглобина, или 50 г/л интраглобина. Во 2-й серии исследуемые препараты предварительно инкубировали в течение 1 часа с тест-культурой *S. aureus*. В 3-ей серии препараты предварительно инкубировали с фибробластами в течение 1 часа, а затем добавляли тест-штамм стафилококка. 4-я серия опытов содержала те же препараты с добавлением белка А стафилококка 2 г/л (НИИЭМ имени Пастера). В 5-й серии белок А добавляли после 1 часа совместной инкубации препаратов с тест-культурой стафилококка. Контролем во всех сериях служила питательная среда Игла. После получения конфлюэнтного монослоя фибробластов ростовую среду сливали. В 1-й серии опытов среду Игла заменя-

ли раствором соответствующего препарата, добавляли тест-культуру *S. aureus* и инкубировали в течение 2 часов при 37 °С. Во 2-й серии опытов к исследуемым препаратам добавляли тест-штамм *S. aureus*, инкубировали 1 час при 37 °С, затем добавляли в пробирки Лейтона к фибробластам и продолжали инкубацию при 37 °С в течение 1 часа. В 3-ей серии проводили совместную инкубацию фибробластов и препаратов иммуноглобулинов в пробирках Лейтона в течение 1 часа при 37 °С, затем добавляли тест-культуру стафилококка и инкубировали еще 1 час при 37 °С. 4-ую серию опытов проводили аналогично с первой с добавлением белка А стафилококка. В пятой серии опытов белок А добавляли через 1 час совместной инкубации препаратов с тест-штаммом стафилококка на клетках и продолжали инкубацию в течение 1 часа при 37 °С. Интенсивность процесса адгезии оценивали по следующим показателям: 1) индекс адгезии (ИА) выражали средним числом бактериальных клеток на одной эукариотической клетке; 2) процент пораженных клеток монослоя (ПК %); 3) обсемененность 100 клеток монослоя — микробную нагрузку (МН) — определяли по формуле $MH = IA \times PK \%$. Статистическую обработку цифровых результатов и оценку достоверности различий определяли с помощью программы Stat/ Graphics.

Результаты. ИА и ПК % в контрольных образцах составили соответственно $24,1 \pm 3,3$ и 90 %. Результаты первой серии опытов выявили выраженное ингибирующее действие коммерческих препаратов иммуноглобулинов на прикрепление бактерий к клеткам-мишеням *in vitro*. Прединкубация препаратов в течение 1 часа с тест-штаммом *S. aureus* или с фибробластами достоверно не изменяла значения подавления адгезии микроорганизма. Белок А стафилококка при совместной инкубации с препаратами полностью подавлял

антиадгезивный эффект нормального иммуноглобулина и интраглобина и практически не влиял на активность пентаглобина.

Выводы. У многих бактерий, в том числе у представителей коагулазоположительных стафилококков, взаимодействие лигандов осуществляется с константным Fc-фрагментом иммуноглобулинов по неиммунному (сорбционному) типу. В клеточной стенке *S.aureus* структурами, «узнающими» Fc-фрагмент, являются 4 участка на молекуле белка А. Наличие коммерческого препара-

та белка А в инкубационной среде в опытах целиком снимало антиадгезивный эффект иммуноглобулина нормального и интраглобина. Растворы иммуноглобулинов в среднем на 92 % подавляют адгезию *S.aureus* к клеткам фибробластов. Известно, что белок А стафилококков активнее реагирует с агрегированным IgG. Полимерный препарат пентаглобин, благодаря своей структуре и пространственной форме, обладает более сильным антиадгезивным действием, чем иммуноглобулин нормальный человеческий.

*Бельгесов Н. В., Вильянинов В. Н., Романенко С. М.,
Щеглова И. В., Калеко С. П., Белозеров Е. С.*

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

ПОЛИИММУННАЯ ПЛАЗМА С ВЫСОКИМИ УРОВНЯМИ ДЕФЕНСИНОВ — НОВОЕ СРЕДСТВО БАКТЕРИАЛЬНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ГЕМОТРАНСФУЗИЙ

Введение. В настоящее время по-прежнему актуальной является задача повышения лечебной эффективности гемотрансфузий за счет применения иммунной плазмы у пациентов с инфекционными осложнениями. В наших исследованиях (Вильянинов В. Н. с соавт., 2015; Ващенко В. И. с соавт., 2016) показано, что средством, повышающим бактериальную безопасность трансфузий, может являться полииммунная плазма с повышенными уровнями дефенсинов — как компонент укрепляющий систему врожденного иммунитета.

Цель. Исследовать эффективность лечения пациентов с инфекционными заболеваниями и осложнениями после оперативных вмешательств, травм и ожогов за счет применения донорской полииммунной плазмы, содержащей высокие уровни дефенсинов.

Материалы и методы. Исследования иммунологических показателей крови доноров и больных проводили на проточном цитометре FACSCalibur (США) стандартизованными методиками. Качество и биологическую полноценность СЗП оценивали, используя коагулометр ACL TOP 500 («Instrumentation Laboratory», США) по показателям гемостаза: ТВ, ПТИ, АЧТВ, МНО, фибриноген, факторы VIII и V, а также активность антитромбина III, протеина С и протеина S. Количественное содержание в донорской плазме дефен-

синов определяли методом ИФА на фотометре StatFax-2100 при длине волны 450 нм при помощи наборов реагентов «HyCult Biotechnology» (Нидерланды). Реакции проводили согласно прилагаемой инструкции с обязательным контролем стандартных позитивных и негативных сывороток, входящих в состав тест-систем. Расчет содержания дефенсинов осуществляли по калибровочной кривой, построенной по результатам фотометрирования стандартных образцов.

Отбор образцов СЗП для лечебных целей осуществляли у лиц, в плазме которых дефенсини содержались в концентрации свыше 100 нг/мл.

Результаты. Нами обследовано 446 доноров в возрасте 21–34 года, из которых 392 — мужчины, 54 — женщины. Среди обследованных доноров у 129 мужчин и 15 женщин выявлены дефенсини в лечебном титре, то есть выше 100 нг/мл.

Все заготовленные компоненты с повышенными уровнями дефенсинов были переданы в клиники термических поражений, общей хирургии, госпитальной хирургии, а также факультетской терапии Военно-медицинской академии для лечения тяжелых хирургических больных, имевших в анамнезе инфекционные осложнения. В результате лечебных мероприятий с использованием трансфузий СЗП с повышенными уровнями

дефензинов у реципиентов плазмы наблюдалось укорочение (отсутствие) лихорадочного периода.

Выводы.

1. Укорочение (отсутствие) лихорадочного периода у больных с инфекционными осложнениями, получавших трансфузии плазмы с повышенными уровнями

- дефензинов, доказывает целесообразность применения таких компонентов.
2. Необходимы дальнейшие клинические исследования трансфузий СЗП с повышенными уровнями дефензинов на более широком контингенте больных, имеющих в анамнезе инфекционные осложнения.

Белякова В. В.¹, Гукасян И. А.¹, Донская О. В.¹, Майорова О. А.¹, Рагимов А. А.²

¹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Департамента здравоохранения г. Москвы «Станция переливания крови Департамента здравоохранения г. Москвы», г. Москва

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

**ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ В СЛУЖБЕ КРОВИ
И РИСКИ ПОСТТРАНСФУЗИОННЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ**

Введение. Лабораторное тестирование донорской крови является важным звеном, обеспечивающим инфекционную безопасность гемотрансфузий. Применение высокочувствительных серологических и молекулярно-биологических методов для скрининга донорской крови позволяет гарантировать достаточно высокий уровень инфекционной безопасности гемокомпонентов. Но определенный пороговый уровень детекции может быть причиной ложноотрицательных результатов и не может полностью исключить вероятность посттрансфузионного заражения реципиента опасными инфекциями. Количественным показателем безопасности донорской крови является величина остаточного риска инфицирования (ОРИ) трансфузионно-трансмиссивными инфекциями (ТТИ).

Цель. Оценить эффективность использования лабораторных методов для тестирования донорской крови.

Материалы и методы. Скрининг образцов крови доноров на серологические маркеры ТТИ и верификацию положительных результатов выполняли, используя тест-системы и оборудование компаний “BioRad” (США), “Abbott” (США), ЛИА ВГС (Fujirebio), исследование биохимических показателей проводили на анализаторе компании “Abbott” (США). Образцы плазмы крови исследовали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью мультиплексной тест-системы Cobas Taq Screen MPX 2 на аппаратном комплексе Cobas s 201 (“Roche”, Швейцария) или мето-

дом амплификации, опосредованной транскрипцией (ТМА), с помощью мультиплексной тест-системы Procleix Ultrio Assay на анализаторе Panther (“GenProbe”, США). ОРИ вирусом иммунодефицита человека (HIV) и вирусом гепатита С (HCV) определяли методом, который основан на математической модели расчета инцидентности (incidence rate) / период окна (window period).

Результаты. За период 2010–2015 гг. протестировано 879915 донаций, выявлено 90 случаев ДНК вируса гепатита В (HBV) положительных образцов с «молчащей» формой гепатита В, в 66 образцах были положительные результаты на антитела к core антигену (а-НВс), в 6 образцах — отрицательные результаты, в остальных случаях исследование на а-НВс не проводили, в 4 образцах активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) превышала нормальные значения. Существование «молчащей» формы гепатита В, которая характеризуется низкой концентрацией ДНК вируса HBV в крови при отрицательном результате тестирования на поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) и положительном — на а-НВс, представляет угрозу вирусной безопасности заготавливаемых компонентов крови. Молекулярно-биологическое тестирование всех компонентов крови и обязательное тестирование первичных доноров на а-НВс позволит снизить риск инфицирования реципиентов ТТИ.

Определение активности АЛТ, как суррогатного маркера вирусных гепатитов, позво-

ляет исключить переливание инфицированных компонентов крови с отрицательными результатами серологических и молекулярно-биологических тестов. «Брак» компонентов крови по АЛТ составляет порядка 2,57–3,66 %. За период 2010–2015 гг. выявлен 71 случай HCV-инфекции в период «серологического окна», в 30 образцах активность АЛТ превышала нормальные показатели. Необходимо учитывать, что в большинстве лабораторий службы крови как в России, так и за рубежом скрининг донорской крови генетическими методами проводят в мини-пулах. Хотя чувствительность современных NAT-тестов позволяет проводить подобного рода исследования, при очень низкой вирусной нагрузке разбавление образца в процессе формирования минипула, особенно в случае «молчащей» формы HBV-инфекции, может

приводить к ложноотрицательному результату.

ОРИ составил для HIV — 3.2 и для HCV — 13,35 на 1 млн. донаций. Сравнительный анализ полученных нами результатов с данными зарубежных авторов показал, что ОРИ HIV и HCV в Московском регионе значительно превышают аналогичные величины в большинстве развитых стран, что связано с показателями заболеваемости населения.

Выводы. Таким образом, применение биохимических, серологических и молекулярно-биологических лабораторных методов в службе крови позволяет значительно повысить вирусную безопасность заготавливаемых гемокомпонентов, а ОРИ ТТИ позволяет оценивать эффективность использования методов лабораторного скрининга донорской крови.

Бессмельцев С. С.

Федеральное государственное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург

ИНФЕКЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СИСТЕМЫ КРОВИ: МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

Инфекционные осложнения часто наблюдаются при опухолевых заболеваниях системы крови и являются одной из причин летальности. Так, в целом риск любых инфекций у больных множественной миеломой (ММ) в 7 раз выше, чем у пациентов с негематологическими заболеваниями. При этом риск бактериальных инфекций выше в 7 раз, а вирусных — в 10 раз. Частота выделения бактерий из гемокультуры больных острыми лейкозами (ОЛ) не выше 20 %, в то время как частота инфекционных осложнений на разных этапах лечения колеблется от 70 до 90 %. Частота инфекционных осложнений у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) на этапе индукции достигает 98 %, а у больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) — 55 %. При хроническом миелолейкозе (ХМЛ) инфекционные осложнения встречаются в 7–20 % случаев и чаще в фазе бластного криза. При хроническом лимфоцитарном лейкозе (ХЛЛ) инфекционные осложнения наблюдаются у 75–80 % больных и имеют склонность к затяжному течению.

Более чем у 50 % больных ХЛЛ инфекции развиваются во время курса лечения, особенно при использовании флударабинсодержащих режимов терапии. От 30 до 50 % больных погибают от инфекционных осложнений.

Подверженность больных опухолевыми заболеваниями системы крови инфекциям обусловлена нарушениями в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета (снижение пролиферации Т-клеток в ответ на антигенную стимуляцию, снижение продукции поликлонального В-клеточного ответа, снижение активности натуральных киллеров, снижение уровня поликлональных иммуноглобулинов), расширением входных ворот, вследствие повреждения кожи, слизистых оболочек, длительной катетеризации центральных вен, активизацией эндогенной инфекции.

Факторы риска развития инфекций при опухолевых заболеваниях системы крови можно разделить на три группы: 1. Связанные с заболеванием — выраженная опухолевая инфильтрация костного мозга, активность заболевания, рецидив заболевания, высокий

уровень М-компонента при ММ, почечная дисфункция (при клиренсе < 30 мл/мин — высокий риск), гиповентиляция (переломы ребер, компрессионные переломы и т. д.). 2. Связанные с пациентом — пожилой возраст, сопутствующая патология, хронические болезни органов дыхания, сердца, печени, длительная иммобилизация. 3. Связанные с лечением — применение кортикостероидов, тип и интенсивность химиотерапевтических режимов (стандартная/высокодозная, иммуномодуляторы и др), трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, катетеризация центральных сосудов, повреждение слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта. Важным фактором риска является степень тяжести нейтропении и быстрота падения количества лейкоцитов. При количестве нейтрофилов > $0,5 \times 10^9$ /л положительный ответ на лечение антибиотиками наблюдается у 90 % больных, а летальность составляет 7 %, в то время как при количестве нейтрофилов < $0,5 \times 10^9$ /л — 60 % и 20 %, соответственно. Низкий уровень нейтрофилов до начала химиотерапии (ХТ) является риском развития тяжелой нейтропении и нейтропенических осложнений после завершения цикла ХТ. Количество нейтрофилов менее $0,5 \times 10^9$ /л, сохраняющееся в течение 10 дней и более, является основным пороговым значением, определяющим высокую вероятность возникновения тяжелых инфекционных осложнений у пациентов опухолевыми заболеваниями системы крови. Степень тяжести нейтропении лежит в основе стратификации больных на группы риска развития инфекционных осложнений: менее 7 дней — низкий риск, 7–10 дней — промежуточный риск, более 10 дней, а при нейтрофилах < $0,1 \times 10^9$ /л — менее 7 дней — высокий риск.

Наряду с бактериальными инфекциями при опухолевых заболеваниях системы крови нередко возникают грибковые и вирусные инфекции. Так, при увеличении длительности нейтропении (более 2-х недель) значительно увеличивается частота развития инвазивного аспергиллеза. При сроках наблюдения за больными ММ, неходжкинскими лимфомами (НХЛ) в течение 5–10 лет отмечено 2-кратное увеличение риска любых инфекций: бактериальные инфекции — пневмонии, инфекции мочевых путей, сепсис, остеомиелит, эндокардит, менингит, поражения ЖКТ, инфекции кожи и мягких тканей и др.;

вирусные инфекции — грипп, герпетическая инфекция (*Varicella Zoster*, *Herpes simplex*, *Cytomegalovirus*) и др.; грибковые инфекции (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida spp*) — кандидемия, инвазивный кандидоз, инвазивный аспергиллез. При исследовании грампринадлежности и видового состава микроорганизмов, выделенных из крови при инфекциях кровотока у больных гемобластомами в период 1991–2013 гг., нами установлено существенное преобладание грамположительных микробов над грамотрицательными микробами. Среди грамположительных микробов преобладали коагулазонегативные стафилококки, а среди грамотрицательных — представители семейства *Enterobacteriaceae*, в частности *Escherichia coli*, что, возможно, обусловлено: использованием сосудистых катетеров, проведением деконтаминации кишечника, подавляющей грамотрицательную микрофлору, выбором антибиотиков для эмпирической антибактериальной терапии. Встречаются также анаэробные бактерии (*Clostridium difficile*), вирусы (*Varicella Zoster*, *Herpes simplex*, *Cytomegalovirus*), грибы (*Candida*, *Aspergillus*).

Важным представляется тот факт, что при изучении вирусов группы герпеса в крови больных с бактериальными инфекциями установлено достоверное повышение частоты выявления генома вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) и цитомегаловируса (ЦМВ). Известно, что ЦМВ и ВЭБ обладают способностью вызывать иммуносупрессию. Вероятно, наряду с гранулоцитопенией, развитию бактериальных осложнений у больных с опухолевыми заболеваниями системы крови способствует иммуносупрессия, вызванная ЦМВ и ВЭБ. Тяжелым осложнением является цитомегаловирусная пневмония, частота которой колеблется от 0,4 % при миелодиспластическом синдроме до 11,0 % при лимфобластных лимфомах.

Принципы антибактериальной терапии инфекционных осложнений заключаются в следующем.

1. Немедленное начало антибактериальной терапии после установления диагноза.
2. Выбор первого препарата, как правило, осуществляется эмпирически в зависимости от клинической и эпидемиологической ситуации. Эмпирическую антибактериальную терапию начинают при

повышении температуры тела больного (выше 38 °С более 2 часов), низком количестве гранулоцитов в периферической крови ($< 0,5 \times 10^9/\text{л}$), и появлении первых клинических признаков инфекции в соответствии с общепринятой методикой в среднетерапевтических дозах. После микробиологической идентификации бактериальной инфекции производится коррекция антибактериальной терапии.

3. Оценка правильности выбора антибиотика осуществляется не ранее, чем по истечении 3-х дней после его назначения.
4. Продолжительность антибактериальной терапии составляет 7–10 дней. У больных тяжелыми госпитальными пневмониями ее сроки могут удлиняться до 2–3-х, а иногда и более недель.
5. Принципиальным является содержание нейтрофилов в периферической крови. Если их содержание превышает $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и у больного нормальная температура, антибиотики можно отменить.

Наряду с использованием антибактериальных препаратов, при выявлении грибковых или вирусных инфекций, назначают противогрибковые (каспофунгин, кетоназол, флуконазол и др.) и противовирусные (ацикловир, валацикловир, фамцикловир и др.) препараты.

Больным с инфекционными осложнениями показаны препараты иммуноглобулинов для внутривенного введения: сандоглобулин, пентаглобин, интраглобин, иммуновенин, привиджен. Применение препаратов этой группы обеспечивает повышение иммунологической защиты организма в отношении практически всех инфекционных микроорганизмов и позволяет предотвратить развитие тяжелых инфекций у больных. Практически каждый из иммуноглобулинов для внутривенного введения представляет собой поливалентный иммуноглобулин человека. Так, привиджен состоит в основном из IgG с широким спектром функционально неповрежденных антител к инфекционным агентам. Обе функции Fc и Fab молекул IgG сохранены. Препарат назначают при ММ, ХЛЛ и других формах гемобластозов в качестве заместительной терапии. Рекомендован режим дозирования от 0,2 до 0,4 г/кг массы тела каждые 3–4 недели. Эффективность и переносимость

привиджена при вторичном иммунодефиците оценена в нескольких многоцентровых клинических исследованиях. В одно из исследований (Hans R. al., 2014) было включено 1166 пациентов с ХЛЛ, ОЛЛ, ХМЛ, ОМЛ, НХЛ с различными типами инфекций (кожа/мягкие ткани, верхние дыхательные пути, бронхиты, пневмонии, мочевыделительная система, ЖКТ). Средний период наблюдения за больными составил 9,4 месяцев. Средняя месячная доза привиджена составила 14,0 г ($0,2 \text{ г/кг}$ массы тела), а в общей сложности все больные получили 10783 инфузий привиджена. Очень хороший или хороший ответ составил 93,8%. Переносимость препарата в 92,5% случаев была расценена как очень хорошая или хорошая. Среди нежелательных явлений привиджена авторы отметили озноб, тошноту, рвоту, боли в спине, снижение АД, одышку, головные боли, аллергические реакции, тахикардию, кашель, артралгии. Однако серьезные осложнения наблюдались в 0,1% случаев.

При высокодозных режимах ХТ, сопровождающихся риском развития фебрильной нейтропении, показано назначение КСФ. Они применяются также у пациентов с низким резервом костного мозга (абсолютное число нейтрофилов $< 1,5 \times 10^9/\text{л}$), пациентов с агрессивным течением ММ, НХЛ, при высокоинтенсивных режимах химиотерапии, для предупреждения редукции дозы цитостатических препаратов, негативно влияющей на выживаемость больного.

К мерам профилактики инфекционных осложнений относятся общие мероприятия, о которых не следует забывать: мытье рук перед едой, гигиена полости рта: чистить зубы с мягкой зубной щеткой после еды и зубную нить ежедневно; менять зубную щетку раз в три месяца, пища должна быть тщательно приготовлена, фрукты и овощи вымыты. Избегать контакта с инфицированными лицами, с поражением кожи (герпес, ветряная оспа и др.), людных мест, развлекательных мероприятий во время неблагоприятной эпидемиологической обстановки. В период нейтропении больного следует изолировать. Больным опухолевыми заболеваниями системы крови показана вакцинация против пневмококка, гепатита А, В, гриппа А и В, гемофильной палочки. Однако следует избегать использования живых вакцин. При вакцинации пневмококковой вакциной у боль-

ных ММ, например, наблюдался более высокий титр антител и антиген-специфический Т-клеточный ответ, по сравнению с больными без вакцинации. Максимальная эффективность была достигнута, когда вакцинация

осуществлялась параллельно с терапией ММ (использовали леналидомид). При недостаточном ответе рекомендуется ревакцинация. Целесообразна вакцинация лиц, находящихся в контакте с больным.

Билялова К. И., Боранбаева Р. З., Темирбаева Ж. С., Аринова А. Ж., Рахманова А. А.

Республиканское Государственное казенное предприятие «Научный центр педиатрии и детской хирургии»
Министерства здравоохранения Республики Казахстан, г. Алматы, Республика Казахстан

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ИНФЕКЦИЙ КРОВОТОКА

Введение. Установлено, что более 80 % случаев инфекций кровотока являются нозокомиальными инфекциями. В развитых странах средняя частота развития катетер-ассоциированных инфекций (КАИК) составляет 4–6 случаев на 1000 дней катетеризации, что выводит эту патологию в лидеры развития бактериемии и в тройку самых частых нозокомиальных инфекций. Основным источником возбудителей КАИК являются микроорганизмы кожи пациента, инфицирующие внешнюю сторону катетера, а также микроорганизмы кожи рук персонала, ухаживающего за устройством. Спорадическую роль в инфицировании устройств для сосудистого доступа могут играть контаминированные жидкости для инфузии (препараты и компоненты крови, кровезаменители и растворы для парентерального питания) или гематогенное распространение микроорганизмов. Создание собственной базы данных в конкретном стационаре по таксономической структуре возбудителей инфекций кровотока, резистентности их к антибиотикам является необходимым условием качественной эмпирической терапии и профилактики инфекционных осложнений.

Цель исследования — определить этиологическую структуру бактериемий у детей с гематологическими заболеваниями, изучить резистентность возбудителей к применяемым антибактериальным препаратам.

Материал и методы. Забор крови производили в асептических условиях в отделениях гематологии в два флакона с двухфазной средой для гемокультур производства Hi media (Индия) с целью выявления бактериемии и фунгемии. Флаконы с образцами крови инкубировали в термостате в течение 7 дней при 37° и 22°С соответственно. Через

каждые 3 дня проводили просмотр флаконов. При наличии помутнения производили высев по общепринятым методикам на дифференциально-диагностические, в том числе хромогенные, питательные среды. Идентификация культур проводилась согласно принятым схемам для каждой группы микроорганизмов. Чувствительность выделенных возбудителей к антимикробным препаратам определяли методом дискодиффузии, а также с помощью микробиологического анализатора Walk away 40 США и компьютерной программы Whonet 5.

Результаты. Микробиологическое исследование 1605 проб крови в течение года дало положительный результат в 101 пробе (6,4 %). Преобладающей флорой оказались грамположительные бактерии — 72,2 %, грамотрицательные бактерии выявлены в 22,8 %. Микромицеты определены в 5 % и представлены дрожжеподобными грибами *Candida spp.* Возбудители инфекций кровотока чаще высевались в монокультуре — 85–90 %, в 10–15 % в различных ассоциациях.

В видовом соотношении грамположительные бактерии распределились в следующем порядке: коагулазоположительные стафилококки (*St.aureus*, *St.haemolyticus*, *St.hyicus*) в 21,7 %; коагулазотрицательные (*St.epidermidis*, *St.hominis*, *St.intermedius*, *St.auricularis*, *St.simulans*, *St.sciuri*, *St.saprophyticus*) определены в 71 %; *Str.pneumoniae* в 7.2 %.

Грамотрицательные бактерии в 80 % представлены различными родами семейства кишечных (*Klebsiellae spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Cedecea davisae*, *Providenciae*, *E.coli*). В одном случае высеяна *Ps.aeruginosa* — 5 %, неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГФБ) определены в 15 %.

Антибиотикорезистентность грамположительных бактерий, возбудителей инфекций кровотока, выглядела следующим образом: наибольшую активность к ним проявили аминогликозиды 1, 3 поколения, карбапенемы, цефалоспорины 2, 4 поколений, гликопептиды. 20–25 % изученных штаммов резистентны к цефалоспорином 1, 3 поколений. Половина изученных штаммов резистентны к бета-лактамам пенициллинам.

Грамотрицательные бактерии наоборот проявили наибольшую чувствительность к бета-лактамам пенициллинам. Далее по силе активности расположились аминогликозиды 3 поколения, хинолоны, нитрофураны, цефалоспорины 1, 2 поколений, карбапенемы. 25–30 % штаммов оказались резистентными к аминогликозидам 1 поколения и цефалоспорином 3, 4 поколений.

Выводы. Полученные результаты подчеркивают необходимость микробиологического мониторинга в каждом отдельно взятом лечебном учреждении. Для целенаправленной этиотропной и эмпирической терапии инфекций кровотока важен комплекс бактериологических и микологических исследований.

Анализ полученных результатов показал, что инфекции кровотока у гематологических больных были вызваны в большей степени грамположительными бактериями — 72,2 %, в 22,8 % — грамотрицательными бактериями. Микромицеты определены в 5 %.

Видовой спектр грамположительных бактерий представлен в 71 % коагулазотрицательными полирезистентными стафилококками, грамотрицательные бактерии в 80 % — представителями семейства кишечных.

Билялова К. И., Боранбаева Р. З., Темирбаева Ж. С., Аринова А. Ж., Рахманова А. А.

*Республиканское Государственное казенное предприятие «Научный центр педиатрии и детской хирургии»
Министерства здравоохранения Республики Казахстан, г. Алматы, Республика Казахстан*

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Введение. Таксономическая структура возбудителей инфекционных осложнений не остается постоянной, так как со временем меняется соотношение видов возбудителей. Полиэтиологичность и смена возбудителей в значительной мере зависят от частоты применения антибактериальных препаратов, в связи с чем особое значение приобретает установление у гематологических больных этиологической структуры возбудителей при различных воспалительных процессах, являющееся обязательным условием для обоснованного подхода к антибактериальной терапии. В течение последних 30 лет в международную клиническую практику были внедрены технологии лечения больных, основанные на опыте проспективных многоцентровых рандомизированных исследований эффективности лечебных протоколов. Во всем мире, в том числе и в Казахстане, с началом перехода к использованию протоколов лечения BFM в детской гематологии с начала 90-х годов прошлого века, резко снизилась

смертность детей с острым лейкозом. Однако интенсификация полихимиотерапии существенно увеличила частоту инфекционных осложнений, приводящих к летальному исходу потенциально излечимого больного. Это обусловлено появлением и распространением госпитальных штаммов, полирезистентных к антимикробным препаратам.

Цель работы. Определение таксономической структуры микрофлоры различных биотопов у гематологических больных с установлением антибиотикорезистентности для проведения рациональной этиотропной терапии.

Материалы и методы. Материалом для исследований является клинический материал из различных биотопов гематологических больных. Применены общепринятые микробиологические методы выделения и идентификации с использованием дифференциально-диагностических селективных питательных сред для каждой группы микроорганизмов. Биохимическая идентификация

проводилась с применением известных схем и ключей классификации Берджи. Этиологическая значимость определялась по критериям обсемененности, принятой в клинической микробиологии. Наряду с этим в работу включен микробиологический анализатор Walk away 40 США.

Результаты. Сравнительный анализ таксономической структуры возбудителей инфекционных осложнений у гематологических больных в начале 90-х годов позволил выявить в микропейзаже различных биотопов преобладание грамотрицательной флоры над грамположительной (71,5 % и 28,5 % соответственно). Грамотрицательная флора была представлена в основном различными родами семейства *Enterobacteriaceae*: *E.coli*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp.*, *Klebsiellae spp*, *Hafnia spp*, *Proteus spp*. Грамположительная флора представлена стафилококками, в основном коагулазоположительными видами. Среди них до 30 % *S.aureus* оказались метициллинрезистентными (MRSA), т. е. устойчивыми почти ко всем применяемым антибактериальным препаратам. Грибковые осложнения были вызваны дрожжеподобными грибами рода *Candida*, а также плесневыми грибами родов *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*.

Далее в 2000 годах происходит смена этиологической структуры инфекционных осложнений. Возрастает роль грамположительной флоры по сравнению с грамотрицательной (78,4 %, 21,6 %). Грамположительная флора представлена стафилококками, в основном коагулазоположительными видами и различными видами стрептококков. 25–30 % стафилококков отнесены к группе MRSA. Среди возбудителей грамотрицательной флоры, наряду с вышеуказанными видами, наблюдается небольшой процент высева ферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОб) и *Ps.aeruginosa*. Структура грибковых

инфекций меняется в сторону преобладания дрожжеподобных грибов.

С начала 2010 года произошла смена структуры возбудителей из различных биотопов на грамположительную флору с преобладанием коагулазонегативных полирезистентных стафилококков. (*St.epidermidis*, *St.hominis*, *St.intermedius*, *St.auricularis*, *St.simulans*, *St.sciuri*, *St.saprophyticus*) в 70 % случаев, лишь в 20 % выделены коагулазоположительные стафилококки и различные виды стрептококков (до 10 %). Грамотрицательная флора представлена следующими видами семейства *Enterobacteriaceae*: *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Cedecea davisae*, *Providenciae*, *Ps.aeruginosa*. Процент высеваемости *E.coli* из различных биотопов значительно уменьшился. 5 % высева составили виды НГОб: *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium species*. 15–20 % изолированных *S.aureus* отнесены к группе метициллинрезистентных. Грибковые инфекции в основном представлены различными видами грибов рода *Candida* и рода *Cryptococcus*.

Выводы. Таким образом, анализ таксономической структуры возбудителей инфекционных осложнений у гематологических больных подчеркивает необходимость постоянного микробиологического мониторинга микробного пейзажа с установлением циркуляции возбудителей в стационаре. Динамическое наблюдение за сменой ведущих возбудителей дает возможность создания собственной базы антибиотикорезистентности. Полученные данные позволяют своевременно начать эмпирическую и конкретизировать целенаправленную этиологически значимую терапию. Смена возбудителей, по-видимому, связана, в первую очередь, со снижением иммунологической реактивности организма, с постоянной сменой и вводом в лечение новых антибактериальных препаратов.

Васнева Ж. П.

АО «Самарский диагностический центр», г. Самара

ПРОДУКЦИЯ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА (Г-ИФН) СПОНТАННАЯ И СТИМУЛИРОВАННАЯ У ДЕТЕЙ

Введение. В настоящее время в рамках диагностики туберкулезной инфицированности, особенно для детей с кожной туберкулиновой гиперчувствительностью (КТГЧ),

все более широко рекомендуется использовать интерфероновые тесты. Наиболее широко известны ТВ.spot — и квантифероновый (КФТ) тесты, предложенные исследователя-

ми в 2001 и 2005 гг., соответственно. Диагностическая информативность TB.spot метода варьирует от 84,1 до 95,5 %, тогда как таковая для КФТ составляет 65,3–92,9 %. По своей сути, эти тесты представляют собой регистрацию выброса г-ИФН лимфоцитами периферической крови после инкубации *in vitro* с рекомбинантным туберкулезным белком, имеющимся только в вирулентных штаммах *Mycobacterium tuberculosis*. В качестве такового во многих тест-системах используют коктейль пептидов ESAT6 — CFP10, продуцируемых генетически модифицированной культурой *E.coli*. Данные пептиды входят и в состав коммерческого препарата Диаскинтест (ДСТ), используемого в последнее время для постановки туберкулиновых проб *in vivo*. Однако практика использования интерфероновых тестов показывает, что до 15,0 % случаев отмечаются проблемы в интерпретации полученных результатов. В докладе Старшиновой А. А., прозвучавшем на симпозиуме «Иммунология туберкулеза» в рамках XV Всероссийского научного Форума с международным участием имени академика В. И. Йоффе в Санкт-Петербурге в июне 2015 года, было показано, что у здоровых детей положительные результаты TB.spot и КФТ тестов регистрируются в 8,1 % и 10,8 % случаев, соответственно. У детей с туберкулезом в 18,7 % случаев отмечаются отрицательные результаты TB.spot теста и в 25,0 % случаев — КФТ. Нельзя исключить вероятность того, что описанные проблемы могут быть связаны с индивидуальными особенностями продукции г-ИФН. В связи с этим **целью** данной работы явился

анализ результатов исследований особенностей спонтанной и стимулированной продукции г-ИФН у здоровых детей с КТГЧ.

Материалы и методы. Обследовали 238 детей в возрасте от 1 до 15 лет (мальчики 46,0 %) за период 2010–2015 гг. В периферической крови определяли уровни г-ИФН спонтанного (г-ИФН_{сп}) и стимулированного фитогемагглютинином (г-ИФН_{ФГА}) и Диаскинтестом (г-ИФН_{дст}) (ЗАО «ЛЕККО», Россия) после 24 часовой инкубации при 37 °С с использованием ИФТС («Вектор-Бест», Россия). Статистическая обработка проводилась с использованием программы Statistica 5.5.

Результаты. Анализ результатов показал, что у детей уровень г-ИФН_{сп} в среднем составил $11,0 \pm 2,5$ пг/мл. В 10,0 % случаев уровень таковой превышал 100,0 пг/мл, в 36,6 % — не превышал 0,0 пг/мл.

Уровень г-ИФН_{ФГА} составил $605,0 \pm 123,0$ пг/мл. В 94,5 % случаев таковой превышал спонтанный выброс г-ИФН и только в 4,0 % не превышал 0,0 пг/мл.

Уровень г-ИФН_{дст} составил $4,5 \pm 0,4$ пг/мл. В 22,0 % таковой превышал г-ИФН_{сп} и в 64,0 % случаев был равен 0,0 пг/мл.

Выводы. Т.о., можно резюмировать, что у здоровых детей в 10,0 % случаев регистрируется повышенная спонтанная продукция г-ИФН и в 5,5 % сниженная способность продуцировать г-ИФН в тест-системе с ФГА. Дальнейшему обследованию в плане исключения туберкулезной инфицированности, по нашему мнению, подлежат дети (22,0 % случаев), у которых выброс г-ИФН в тест-системе с ДСТ превышает спонтанный.

Ващенко В. И.², Волков А. В.¹, Вильянинов В. Н.², Тихменева И. Б.², Бельгесов Н. В.²

¹ Санкт-Петербургское Государственное казенное учреждение здравоохранения «Городская станция переливания крови», г. Санкт-Петербург

² Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации», г. Санкт-Петербург

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ДЕФЕНСИНОВ В ВИРУСИНАКТИВИРОВАННОЙ ПЛАЗМЕ КАК КРИТЕРИЙ КАЧЕСТВА И ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ТЕХНОЛОГИЙ РЕДУКЦИИ ПАТОГЕНОВ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ

Введение. Актуальность и необходимость инактивации патогенов в плазме для подразделений службы крови заключается в том, что свежезамороженную плазму (СЗП),

не прошедшую карантинизацию из-за неявки донора на контрольное обследование, руководящими документами запрещено переливать пациентам лечебных организаций. В на-

стоящее время для использования такой СЗП в РФ активно внедряются технологии инактивации (редукции) патогенов в донорских компонентах крови. При имеющихся преимуществах использование таких технологий сопряжено с потенциальным неблагоприятным влиянием на клетки крови и белки плазмы, влекущим за собой снижение эффективности терапевтического действия трансфузионных средств.

Цель. Исследовать содержание дефенсинов и показателей гемостаза в вирусинактивированной плазме и оценить ее качество согласно требованиям Стандартов качества к СЗП, применяемой для трансфузий.

Материалы и методы. Вирусинактивацию патогенов в СЗП, заготовленной из дозы консервированной крови из-за отсутствия донора на контрольном обследовании, осуществляли фотодинамическим методом с помощью системы «Theraflex MB-Plasma» (n=64) с применением метиленового синего (МС), а также плазмы, заготовленной автоматическим плазмаферезом — с применением амотосалена — по технологии INTERCEPT (n=63). Качество и биологическую полноценность СЗП изучали как до, так и после вирусинактивации, используя коагулометр STA Compact («Roche», Швейцария) по показателям гемостаза: ТВ, ПТИ, АЧТВ, МНО, фибриноген, факторы VIII и V, а также тест-системы НПО «РЕНАМ» для определения содержания антитромбина III и протеина С. Исследования остаточных клеток проводились на проточном цитометре FACSCalibur (США) стандартизованными методиками. Количественное содержание в плазме дефенсинов оценивали методом ИФА на фотометре StatFax-2100 при длине волны 450 нм при помощи наборов реагентов «HyCult Biotechnology» (Нидерланды). Реакции проводили согласно прилагаемой инструкции с обязательным контролем стандартных позитивных и негативных сывороток, входящих в состав тест-систем. Расчет содержания дефенсинов осуществляли по калибровочной кривой, построенной по результатам фотометрирования стандартных образцов.

Результаты. Установлено, что при использовании МС, показатели МНО, ПТВ, уровень антитромбина III и протеина С до и после ви-

русной инактивации в плазме не изменялись. АЧТВ имело тенденцию к увеличению. ТВ увеличилось с $16,6 \pm 0,9$ с до $19,9 \pm 1,0$ с ($p < 0,05$). Достоверно снижалось содержание фибриногена, V и VIII факторов ($p < 0,01$). Изменения в содержании факторов свертывания при использовании амотосалена были аналогичны. Иные закономерности наблюдались в количественном содержании дефенсинов. Так после инактивации МС их концентрация повышалась с $40,9 \pm 12,8$ нг/мл до $99,3 \pm 23,9$ нг/мл ($p < 0,05$). Можно высказать несколько предположений для пояснения этого факта. Во-первых, гематологам известно, что краска (МС) проникает в ядросодержащие клетки (нейтрофилы) и, следовательно, изменяет внутриклеточный метаболизм. Во-вторых, внутриклеточная активация метаболизма может, и должна, привести к стимуляции повышенной выработки дефенсинов внутри клетки. В конечном счете, при их разрушении, дефенсины выбрасываются в плазму, и их количество превышает исходное, регистрируемое до обработки плазмы МС. Важно при этом отметить, что при вирусинактивации изменяется важный показатель врожденного иммунитета. Хорошо это или плохо для реципиента покажут дальнейшие исследования.

Выводы.

1. Качество вирусинактивированной СЗП соответствовало Стандартам качества на указанный компонент крови и не зависело от использованного метода инактивации патогенов.
2. Выбор метода инактивации определяется способом заготовки плазмы от донора и стоимостной целесообразностью такой манипуляции. СЗП, не прошедшую карантинизацию из-за неавки донора и инактивированную с помощью методов, разрешенных к применению на территории РФ, содержащую повышенные уровни дефенсинов, целесообразно применять у гематологических, кардиохирургических и ожоговых больных для профилактики и лечения нарушений гемостаза.
3. Необходимо проводить дальнейшие исследования биологической полноценности и лечебной эффективности вирусинактивированной плазмы.

Воробьев Е. В., Плотникова М. А., Клотченко С. А., Васин А. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

РАЗРАБОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ СЕПСИСА

Введение. Сепсис является опасным для жизни инфекционным осложнением, особенно у больных с иммуносупрессиями, к которым относятся, в частности, онкогематологические больные. Ранняя диагностика сепсиса позволяет начать своевременную адекватную антимикробную терапию. Наряду с микробиологическими, значительную роль для диагностики сепсиса и оценки тяжести процесса играет определение белковых маркеров сепсиса. В настоящее время не существует единого биомаркера с достаточной чувствительностью и специфичностью. В нашей работе проводится разработка метода единовременного определения 10 биомаркеров на основе технологии микрочипов. Такой подход может позволить осуществлять диагностику сепсиса с большей чувствительностью и специфичностью.

Цель. Разработка диагностической системы для выявления биомаркеров сепсиса.

Материалы и методы. Микрочипы изготавливали путем ковалентной иммобилизации антител на предметных стеклах посред-

ством печати пьезоэлектрическим роботом. Анализ проводили по принципу сэндвич-метода. В качестве аналита использовали 300 мкл тестовой крови. Детекцию биомаркеров в сыворотке крови, связавшихся с антителами на подложке микрочипа, проводили с помощью биотинилированных антител к другим эпитопам этих белков. Сэндвич выявляли стрептавидином, меченным флуорофором Су5, на лазерном сканере для микрочипов.

Результаты. На основании анализа литературных данных выбраны 11 потенциальных маркеров сепсиса. Разработан метод ковалентной иммобилизации белка на химически модифицированном стекле. Разработана высокочувствительная система детекции аналитов в сыворотке крови. Разработан быстрый протокол анализа.

Выводы. Разрабатываемая тест-система позволит проводить быстрый единовременный анализ нескольких биомаркеров и может найти применение в клинической практике для ранней диагностики и оценки тяжести течения сепсиса.

Высочин И. В., Макаров М. С., Кобзева Е. Н.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва

ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИНАКТИВАЦИИ ПАТОГЕНОВ НА КАЧЕСТВО КЛЕТОК ТРОМБОЦИТНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ

Введение. Технология инактивации патогенов INTERSEPT Blood System (CERUS Corporation, США) внедрена во всем мире для производства безопасных тромбоцитных концентратов (ТК). При этом возникает необходимость контроля качества клеток обработанных ТК. Ранее нами было показано, что биологическая полноценность тромбоцитов ТК резко снижается после 3 суток хранения при +20 — +24 °С. При этом, исследования морфофункционального статуса тромбоцитов в ТК после инактивации патогенов не проводились.

Цель. Оценить влияние инактивации патогенов на качество ТК в процессе хранения.

Материалы и методы. Аферезным методом на сепараторе крови Trima Accel® было получено 180 лечебных доз лейкоредуцированных ТК (90 опытных доз и 90 контрольных доз). Все образцы ТК хранили в течение 5 суток при температуре от +20 до +24 °С и постоянном перемешивании. Инактивацию патогенов в опытных ТК проводили фотодинамическим методом на приборе INTERSEPT Blood System (CERUS Corporation, США) с использованием активного реагента Амотосален. Ка-

чество тромбоцитов оценивали до и после процедуры инактивации патогенов, а также ежедневно в течение пяти суток хранения. На всех стадиях определяли общее содержание тромбоцитов (10^{11} /в дозе) и содержание функционально активных тромбоцитов, ФАТ (в %). ФАТ представляют собой клетки с нормальным содержанием гранул и других мембранных структур, обладающие адгезивной активностью. Для морфофункционального анализа использовали оригинальный метод оценки качества тромбоцитов, основанный на окрашивании клеток витальными флуорохромными красителями с последующим анализом во флуоресцентном микроскопе. Ранее определено нормальное содержание ФАТ на уровне от 35 до 75 %.

Результаты. Исходное количество тромбоцитов составило $2,30 \pm 0,30 \times 10^{11}$ /в дозе в контрольных ТК и $2,4 \pm 0,25 \times 10^{11}$ /в дозе в опытных ТК. В течение всего срока наблюдения эти показатели практически не менялись. Исходное содержание ФАТ варьировало от 29 до 75 % в опытных ТК и от 30 до 74 % в контрольных ТК, составило в среднем 52 ± 7 % и 54 ± 7 %, соответственно. Опытные ТК дополнительно разделили на 3 группы: 1-я — с ФАТ ≤ 40 % (N=30), 2-я — с ФАТ от 40 до 60 % (N=41), 3-я — с ФАТ ≥ 60 % (N=19). Среднее значение ФАТ в 1-й группе составило 35 ± 2 %, во 2-й — 50 ± 3 %, в 3-й — 69 ± 2 %. После инактивации патогенов через 15 мин во всех 3-х группах отмечено незначительное снижение содержания ФАТ: в 1-й группе до 30 ± 2 %, в 2-й — 46 ± 4 %, в 3-й — 64 ± 3 %. Через 1 сутки хранения опытные ТК (по всем группам) содержали в среднем 38 ± 6 % ФАТ (снижение на 29 % от исходного), контрольные ТК — 49 ± 7 % (снижение на 9 %), через 2 суток — 32 ± 5 % и 46 ± 5 %, соответственно. При этом изменение ФАТ в разных группах

опытных ТК было неодинаковым. В 1-й и 2-й группе динамика изменения ФАТ была сходной, в результате уже через 2 суток хранения в ТК 1-й и 2-й групп средний уровень ФАТ был достоверно ниже нормы. В 3-й группе изменение ФАТ было менее выраженным: через 1 сутки хранения ТК 3-й группы содержали в среднем 59 ± 3 % ФАТ (снижение на 15 % от исходного), через 2 суток — 50 ± 4 % (снижение на 27 %). При дальнейшем хранении и в опытных, и в контрольных ТК отмечено резкое падение морфофункционального статуса тромбоцитов. Через 3 суток значение ФАТ составило в среднем 19 ± 3 % в контрольных ТК и 10 ± 4 % в опытных ТК (4 % в 1-й группе, 9 % во 2-й группе, 17 % в 3-й группе). После 5 суток хранения все ТК не содержали биологически полноценных тромбоцитов. Таким образом, подтверждается сделанное нами ранее предположение о том, что ТК, полученные методом афереза, не рекомендуется хранить более трех суток. Нужно подчеркнуть, что технология инактивации патогенов INTERSEPT Blood System не вызывала спонтанной активации и дегрануляции тромбоцитов. Следовательно, снижение уровня ФАТ обусловлено именно структурными нарушениями тромбоцитов.

Выводы. Технология INTERSEPT Blood System позволяет получить биологически безопасные ТК без значительного снижения качества клеток в их составе. Однако при хранении в таких ТК наблюдается более высокая скорость потери ФАТ. При этом ТК с исходным уровнем ФАТ ≥ 60 % после инактивации патогенов сохраняют нормальный морфофункциональный статус тромбоцитов в течение двух суток и более предпочтительны для хранения. Напротив, ТК с более низким уровнем ФАТ рекомендуется переливать больным непосредственно после инактивации патогенов.

Вяткина О. И., Шляга О. Л., Новик А. В.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», г. Минск, Республика Беларусь

ОЦЕНКА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ЗАГОТОВЛЕННЫХ КОМПОНЕНТОВ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

Введение. Проблема инфекционной безопасности компонентов крови является одной из приоритетных в Республике Беларусь.

На фоне повышения эффективности диагностики вирусных инфекций доноров, в связи с внедрением молекулярно-генетических ме-

тодов тестирования донорской крови, риск переливания контаминированных микроорганизмами компонентов крови сохраняется высоким.

Цель. Оценить эффективность выявления бактериальной контаминации компонентов крови при культивировании образцов на питательных средах и с помощью системы BacT/ALERT.

Материалы и методы. Материалом исследования являлись 4792 образца компонентов крови, заготовленных в 2013–2015 году в Республиканском научно-практическом центре трансфузиологии и медицинских биотехнологий (РНПЦ ТМБ) Министерства здравоохранения Республики Беларусь. Всего проведено бактериологическое обследование 1203 доз эритроцитной массы; 2020 доз концентрата тромбоцитов, заготовленных методов автоматического тромбоцитафереза; 1569 доз свежзамороженной плазмы, заготовленных методом автоматического плазмафереза.

Из доз отбирали по 4 мл компонента крови для обследования методом посева на тиогликолевую жидкую питательную среду и среду Сабуро, культивировали в течение 14 суток при температуре 37 °С с визуальным контролем бактериального роста через 1, 2, 3, 7, 14 суток. При использовании автоматического анализатора BacT/ALERT по 10 мл компонента крови вносили во флаконы для индикации аэробных бактерий и грибов (типа SA) и анаэробных бактерий (типа SN), культивировали в течение 7 суток при температуре 37 °С с автоматическим контролем микробного роста.

Частоту встречаемости положительных результатов среди проанализированных образцов оценивали с помощью χ^2 критерия Пирсона.

Результаты. Проведены параллельные исследования на бактериальную контамина-

цию 4792 образцов компонентов донорской крови с помощью двух методик: с использованием жидких питательных сред и автоматического анализатора гемокультур BacT/ALERT. При этом положительные результаты бактериального роста при использовании анализатора BacT/ALERT выявляются уже через 24 часа, в то время как при посеве на культуральные среды — не ранее чем через 72 часа. Все подтвержденные положительные результаты бактериального роста, полученные с использованием системы BacT/ALERT, полностью подтверждались посевом на культуральных средах. Всего нами выявлена бактериальная контаминация 0,33 % (4/1203) обследуемых образцов эритроцитной массы; 0,019 % (2/2020) образцов концентрата тромбоцитов и 0,19 % (3/1569) образцов свежзамороженной плазмы. Сравнение данных показало, что использование автоматических методов заготовки крови/компонентов крови по сравнению с мануальными имеет предпочтение по частоте выявления бактериальной контаминации различных компонентов крови (в 2,4 раза ниже, $t=1,79$; $p=0,18$). При этом заготовка концентрата тромбоцитов аппаратным методом наиболее безопасна в отношении бактериальной контаминации, например, в 6,7 раза по сравнению с заготовкой эритроцитной массой мануальным методом ($t=2,21$; $p=0,137$).

Выводы. Система BacT/ALERT оказалась более оперативной в промежутке 0–24 часов с момента посева исследуемых образцов по отношению к методике испытания в питательных средах с визуальной оценкой признаков роста. Аппаратные методы заготовки компонентов крови являются предпочтительными по сравнению с мануальными по критериям бактериальной контаминации.

Гайдукова С. Н.¹, Выдыборец С. В.¹, Погорелая О. И.²

¹ Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина. Кафедра гематологии и трансфузиологии

² Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина. Кафедра семейной медицины и амбулаторно-поликлинической помощи

АЛГОРИТМ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ

Введение. Профилактика, ранняя диагностика и своевременное лечение инфекционных осложнений (ИО) у больных неходжкин-

скими лимфомами (НХЛ) являются актуальными проблемами онкогематологии. Поздняя обращаемость за медицинской помощью,

проведение курсов полихимиотерапии сопровождается изменениями иммунологической реактивности и способствует развитию инфекционных осложнений.

Цель исследования — выявление клинико-лабораторных критериев прогноза развития инфекционных осложнений у больных НХЛ.

Материалы и методы. Проанализировано течение заболевания у 151 пациента с НХЛ, в возрасте от 20 до 85 лет (в среднем $57,1 \pm 1,12$), мужчин — 91 (60,3 %), женщин — 60 (39,7 %). Верификация диагноза проводилась, согласно стандартам, на основании гистологического и иммуногистохимического исследования опухолевой ткани, иммунофенотипирования опухолевых клеток периферической крови (ПК). Проявления инфекционных осложнений анализировались с учетом клинической картины и лабораторно-инструментальных исследований. К I-й группе отнесено 110 пациентов с инфекционными осложнениями, к II-й группе — 41 больной без инфекционных осложнений. Статистический анализ включал критерии Стьюдента, Фишера, параметрический и непараметрический корреляционный анализ.

Результаты исследования. У обследованных больных преобладали НХЛ В-клеточного происхождения — у 143 (94,7 %). У 110 пациентов с НХЛ на разных этапах лечения были диагностированы инфекционные осложнения: инфекции нижних дыхательных путей — 54 %, ЛОР-органов — 21 %, мочеполовой системы — 13 %, кожи и мягких тканей — 12 %. Частота инфекционных осложнений имела достоверную связь с продвинутыми стадиями заболевания (III–IV) ($\chi^2=10,04$, $p < 0,05$), наличием симптомов интоксикации ($\chi^2=9,62$, $p < 0,01$), Т-клеточной природой лимфом ($\chi^2=5,23$, $p < 0,05$), лимфомами высокой степени злокачественности ($\chi^2=4,49$, $p < 0,05$), спленомегалией ($\chi^2=5,58$, $p < 0,05$), гепатоспленомегалией ($\chi^2=5,62$, $p < 0,05$), лейкомизацией процесса ($\chi^2=15,03$, $p < 0,001$). При исследовании показателей иммунограммы у всех больных НХЛ наблюдали снижение количества основных популяций Т-лимфоцитов ($p > 0,05$). У больных с инфекционными осложнениями выявлено достоверное снижение CD56+ клеток ($9,88 \pm 1,21$ и $14,25 \pm 2,32$ в I и II

группах соответственно, $p < 0,05$) и повышение CD16+ ($25,86 \pm 1,95$ и $20,44 \pm 2,06$ в I и II группах соответственно, $p < 0,05$). Кроме того, в группе пациентов с инфекционными осложнениями было более высокое содержание количества циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) ($97,22 \pm 24,35$ и $52,22 \pm 10,35$ в I и II группах соответственно, $p < 0,05$) и более низкие показатели фагоцитарного индекса ($p > 0,05$).

На основании проведения математического анализа диагностической информативности комплекса клинико-гематологических и иммунологических показателей у больных НХЛ разработан алгоритм прогнозирования развития инфекционных осложнений, позволяющий предположить вероятность развития инфекционных осложнений еще до проведения ПХТ. Согласно разработанному алгоритму, выделены критерии информативности (КИ): наличие инфекционных заболеваний в анамнезе соответствует КИ 5,3, хронические очаги инфекции — 4,5, гепатоспленомегалия — 3,2, симптомы интоксикации — 2,9, спленомегалия — 2,7, Т-клеточные лимфомы — 2,9, III–IV стадии заболевания — 2,7, лимфомы высокой степени злокачественности — 2,4, лимфоциты костного мозга $> 30\%$ — 3,1, CD16 $> 24\%$ — 3,1, фактор некроза опухоли индуцированный < 17 пг/мл — 3,1, лимфоциты периферической крови $> 45\%$ — 2,4, сегментоядерные нейтрофилы периферической крови $< 45\%$ — 2,2, лейкоциты периферической крови > 16 Г/л — 1,9, циркулирующие иммунные комплексы > 75 о. о.щ. — 1,7, α -интерферон сыворотки крови > 32 Од/0,1 мл — 1,7. Чем больше сумма коэффициентов информативности, тем выше вероятность развития инфекционных осложнений.

Выводы. На основании комплекса клинико-гематологических и иммунологических показателей разработан алгоритм выявления больных НХЛ с высокой вероятностью развития инфекционных осложнений еще до проведения противоопухолевой терапии, что позволяет проводить профилактику, раннюю диагностику, своевременное лечение инфекционных осложнений и улучшить результаты противоопухолевой терапии у больных НХЛ.

Голованова И. С., Касьянов А. Д., Волкова С. Д., Евсеева Е. Е., Четкин А. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФУЛЛЕРЕНСОДЕРЖАЩЕГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ ПРЕПАРАТОВ ДОНОРСКОЙ ПЛАЗМЫ

Введение. Проблема гемотрансмиссивных инфекций остается серьезной и актуальной, несмотря на тщательное тестирование доноров. Кровь и ее компоненты, прошедшие контроль на декретированные гемотрансмиссивные инфекции, остаются потенциально опасными с точки зрения передачи других инфекционных патогенов. К тому же возрастает количество инфекций, передаваемых с донорской кровью в связи с увеличением миграционных процессов

Одним из методов, позволяющих снизить риск передачи гемотрансмиссивных инфекций, является фотодинамическая обработка гемокомпонентов с помощью водорастворимых красителей. Принцип фотодинамического воздействия заключается в активации вводимого фотосенсибилизатора, генерации активных форм кислорода (синглетного кислорода) и последующего разрушения инфекционных агентов. Наиболее широко используются водорастворимые красители: фталоцианины, феноцианины, производные порфиринов и другие. Однако использование данных веществ с целью фотодинамической инактивации белковых препаратов плазмы является весьма затруднительным вследствие сложности последующего их отделения от биологических жидкостей. Более целесообразным является использование в качестве фотосенсибилизатора нерастворимых в воде соединений. Установлено, что таким соединением является твердофазный фотосенсибилизатор на основе фуллерена C_{60} .

Цель работы состояла в исследовании возможности применения фотодинамического воздействия с использованием композиционного твердофазного фуллеренсодержащего наноструктурного фотосенсибилизатора для инактивации вирусов в препаратах плазмы крови.

Материалы и методы. В качестве источника синглетного кислорода был использован

твердофазный фотосенсибилизатор на основе фуллерена C_{60} , изготовленный в ОАО «ГОИ им. С. И. Вавилова» (Санкт-Петербург), 99,85 % чистоты, нанесенный на силикагель марки КСК (Россия), дробленный и фракционированный (20–30 мкм). В качестве объекта исследования использовали 10 % раствор альбумина человека производства ФГУП НПО «Микроген» (г. Пермь). Опытный макет аппаратуры для фотодинамической инактивации создан в ОАО «ГОИ им. С. И. Вавилова». Длина волны в максимуме излучения составляла 460 нм. Для экспериментов использовали вирус гриппа A/PR/8/34(H1N1) из коллекции вирусных штаммов ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ РФ. Все эксперименты по инактивации проводили при одинаковом освещении, скорости перемешивания, режиме термостатирования.

Результаты. В результате проведенных исследований выявлена зависимость между снижением титра вируса гриппа и концентрацией фотосенсибилизатора. Установлено, что внесение фотосенсибилизатора в количестве 5 % от объема достаточно для снижения титра вируса на 3–5,5 log ЭИД₅₀ (доза вируса, вызывающая инфицирование 50 % эмбрионов) по отношению к исходному значению, при этом оптимальное время проведения процесса фотоинактивации составило от 60 до 75 минут. Результаты проведенной работы показали отсутствие цитотоксичности препаратов, подвергнутых процедуре фотоинактивации.

Выводы. Разработка технологий фотодинамического воздействия с использованием композиционного твердофазного фуллеренсодержащего наноструктурного фотосенсибилизатора для инактивации вирусов в препаратах плазмы крови является перспективным направлением повышения инфекционной безопасности продуктов крови.

**Голощанов О. В., Клементьева Р. В., Щербаков А. А., Варавкин О. Ю.,
Аверьянова М. Ю., Бондаренко С. Н., Афанасьев Б. В.**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии
им. Р. М. Горбачевой, г. Санкт-Петербург

ТЕРАПИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ В УСЛОВИЯХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ОРИИТ

Цель исследования. Установить частоту инфекционных осложнений у пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), требующих интенсивной терапии, и чувствительность бактериальной флоры к антибактериальным препаратам. Сравнить эффективность моно- и комбинированной антибиотикотерапии. Представить новый метод лечения инфекции, вызванной *Clostridium difficile*.

Материалы и методы. Сепсис регистрируют у 48 % пациентов, поступивших в гематологическое отделение реанимации и интенсивной терапии. Большинство пациентов составляют больные с гемобластомами — 62 % и лимфопролиферативными заболеваниями — 19 %. В группе пациентов с сепсисом прогрессию основного заболевания отмечали в 29 %, агранулоцитоз — в 47 %. В ОРИИТ преобладают патогенные Гр- возбудители: *Klebsiella spp.* — 39 %, *Pseudomonas spp.* — 17 %. С ростом времени госпитализации наблюдается снижение чувствительности Гр- и Гр+ штаммов бактериальной флоры к антибактериальным препаратам. Проанализирована резистентность *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *Staphylococcus spp.*, *Stenotrophomonas*

maltophilia к современным антибиотикам. Выявлены оптимальные комбинации препаратов для терапии инфекционных осложнений, вызванных резистентными карбапенемазопродуцирующими штаммами *Klebsiella pneumoniae (KPC)* в гематологическом стационаре. Рассматриваются новые группы анти-MRSA антибиотиков — полусинтетические липогликопептиды и оптимальные препараты для терапии *Stenotrophomonas maltophilia*. Предлагается оптимальное время для проведения оперативного лечения инфекции мягких тканей у больных с панцитопенией.

Результаты. Динамический контроль за возникновением бактериальных осложнений и риском развития вторичной резистентности у пациентов отражаются на повышении эффективности, безопасности и фармакоэкономической целесообразности применения противoinфекционных средств в гематологическом ОРИИТ.

Выводы. Для оптимизации контроля инфекционных осложнений у пациентов после ТКСК требуются знание бактериологической ситуации, карты резистентности микроорганизмов к антибактериальным средствам и опыт врача гематологического стационара.

Грицук А. И., Егоренков Н. И., Стародубцева М. Н., Никитина И. А.

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК ДОНОРСКОЙ КРОВИ МЕТОДАМИ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Введение. Оценка качества донорской крови остается актуальной проблемой. Одним из эффективных путей её решения является изучение морфологии клеток и состояния их цитоскелета методами сканирующей зондовой или атомно-силовой микроскопии (СЗМ/АСМ), позволяющими выявлять их раз-

личные патологические состояния. Использование этого метода даёт возможность регистрировать не только трехмерные рельефы клеток (топологию или карты поверхности), но и трехмерные образы (карты) распределения значений физико-механических свойств поверхностного и подповерхностного слоев

клеток. Их физико-механические параметры (упругость, фрикционные, адгезионные и др. свойства), оцениваемые с помощью СЗМ, характеризуют, в основном, свойства кортикальной части цитоскелета и косвенно отражают состояние клеточного метаболизма.

Цель исследования — выявление методами СЗМ динамики изменений состояния цитоскелета и морфологии эритроцитов периферической крови человека при её хранении и в модельных экспериментах тимоцитов крысы при старении организма.

Материалы и методы. Эритроцитарную массу, полученную из венозной крови доноров Гомельской областной станции переливания крови, хранили в стерильных условиях при 4 °С. в течение 7 недель. На 7, 21, 28, 36 и 48-й дни её хранения забирали образцы клеток для СЗМ-исследования. При изучении возрастных изменений поверхностных свойств лейкоцитов использовали отмытые в фосфатном буфере клетки тимуса белых крыс в возрасте 3-х и 8-ми месяцев. Состояние окислительного стресса (ОС) клеток моделировали их инкубацией с пероксинитритом, который получали в реакции NaNO_2 и H_2O_2 в кислых водных растворах с последующим их защелачиванием. Клетки для СЗМ-исследований помещали на стеклянные пластинки, фиксировали 1 % раствором глутарового альдегида и затем высушивали на воздухе при комнатной температуре. Исследования проводили на атомно-силовом микроскопе NT-206 (Микротестмашины, Беларусь) зондами CSC-38 уровня В (MicroMash) в контактном режиме сканирования на воздухе.

Результаты и обсуждение. С увеличением срока хранения эритроцитарной массы снижается содержание в ней дискоцитов-нормоцитов и обратимо изменяющихся форм. Обнаруженные при этом существенные изменения осмотической резистентности эритроцитов, зафиксированные в период необратимой трансформации форм эритроцитов (более 30 дней хранения), сопряжены со значительными изменениями таких СЗМ-показателей клеток, как увеличение параметров сил трения скольжения между зондом-индентором и исследуемой поверхностью. Характер из-

менений СЗМ-параметров при хранении эритроцитов подобен тому, который наблюдается в клетках стареющих или подвергшихся действию ОС. Обнаруженные при хранении эритроцитарной массы существенные изменения физико-механических свойств поверхности клеток отражают не только состояние их цитоскелета, но и, в соответствии с данными литературы, их метаболический статус.

Иммунный статус организма определяется его «иммунологическими часами», запуск которых инициирован, прежде всего, тимусом, что находит отражение в виде возрастных изменений свойств тимоцитов, циркулирующих в крови. Поскольку анализ количественных морфологических параметров (высота, диаметр, объем, площадь) изолированных тимоцитов животных 3- и 8-месячного возраста не выявил возрастных изменений, то мы провели моделирование состояния ОС предварительной активацией клеток пероксинитритом. После инкубации тимоцитов с пероксинитритом (30 и 120 мкМ) обнаружены изменения ряда морфологических параметров лишь у клеток 8-ми месячных животных. Так, у 8-ми месячных животных, в отличие от 3-х месячных, на 15 % уменьшается диаметр тимоцитов, тогда как их объем — почти на 40 %. Обработка тимоцитов пероксинитритом вызывает разные по характеру возрастные изменения СЗМ-параметров клеток, отражающих состояние кортикального цитоскелета. «Стимулирующая» доза пероксинитрита (30 мкМ) вызывает двукратное увеличение средней длины филоподий тимоцитов 3-х месячных животных, чего не наблюдается у тимоцитов 8-ми месячных. У 3-месячных крыс пероксинитрит-индуцированные структурные и физико-механические свойства тимоцитов изменяются без заметного нарушения однородности их распределения по поверхности, тогда как у 8-месячных наблюдается увеличение степени неоднородности их распределения.

Выводы. Полученные данные дают все основания считать, что использование СЗМ является весьма эффективным и информативным инструментом раннего выявления патологических изменений свойств и функций клеток крови.

Дешева Ю. А.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский
Государственный Университет»*

ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА ГРИППА СРЕДИ РАБОТНИКОВ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ.

Введение. Сотрудники медицинских учреждений подвергаются повышенному риску инфицирования гриппом, и вакцинация является наиболее надежным средством для того, чтобы не только защитить их от заражения, но и предотвратить дальнейшее распространение инфекции. Согласно рекомендациям Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), первоочередная вакцинация против гриппа работников здравоохранения способствует снижению заболеваемости и смертности у пациентов и сохранению целостности функционирования системы здравоохранения в период эпидемий и пандемий.

Цель исследования: изучение современных мер и средств для активной иммунопрофилактики гриппа, в том числе среди работников здравоохранения в России и за рубежом.

Материалы и методы. Сбор данных проводился в базах Medline, документах Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и Роспотребнадзора; дополнительно проводилось изучение ссылок к отобранным клиническим и обзорным исследованиям.

Результаты. Сезонные вакцины против гриппа состоят из штаммов вируса гриппа, циркулирующих в течение текущего эпидемического сезона или антигенно-подобных. Трехвалентные гриппозные вакцины включают вирусы гриппа А(Н3N2), А(Н1N1) и штаммы вируса гриппа В. В 2016–2017 гг. ВОЗ рекомендовано включить в состав гриппозных вакцин вирусы гриппа А/Калифорния/7/2009(Н1N1) pdm09-подобный, А/Гонконг/4801/2014(Н3N2)-подобный, В/Брисбен/60/2008-подобный (антигенная линии В/Виктория).

Вакцинация против гриппа в первую очередь рекомендована лицам с высоким риском возникновения осложнений и лицам, по роду профессии имеющим высокий риск заболевания гриппом и заражения других лиц. Согласно Национальному календарю прививок в Российской Федерации, вакцинации против гриппа подлежат дети старше 6 месяцев,

школьники, студенты высших и средних профессиональных учебных заведений, работники медицинских и образовательных учреждений, транспорта, коммунальной сферы, пожилые люди. Для целевых групп рекомендуется ежегодная вакцинация против гриппа с помощью инактивированных вакцин (ИГВ) или живых аттенуированных вакцин (ЖГВ). ИГВ, вводимые парентерально, включают расщепленный вирус, антигенные субъединицы или рекомбинантный гемагглютинин (НА). Вакцины стандартизированы по содержанию НА, обычно по 15 мкг НА на штамм; недавно в США были лицензированы вакцины, содержащие 60 мкг НА на штамм для иммунизации пожилых людей. Использование адъювантов позволяет уменьшить антигенную нагрузку до 5 мкг НА. Инактивированные вакцины с повышенным уровнем безопасности рекомендуются для детей от 6-месячного возраста, пожилых людей и пациентов с хроническими заболеваниями. Следует учитывать, что при ежегодной повторной иммунизации ИГВ с постоянным штаммовым составом эффективность вакцинации снижается. В связи с этим в Приказе МЗ СССР № 327 от 7.08.1990 было указано на нецелесообразность проведения вакцинации ИГВ более 2-х лет подряд.

ЖГВ, вводимые интраназально, содержат аттенуированные (ослабленные) вирусы гриппа всех циркулирующих разновидностей. Показан высокий уровень безопасности ЖГВ у иммунокомпетентных взрослых и детей, многочисленные исследования показали генетическую стабильность живых вакцинных штаммов. В России ЖГВ разрешена к применению детям с 3-х лет и взрослым, включая пожилых пациентов без ограничения возраста. В США и Канаде ЖГВ рекомендуется для детей от 2-х лет и для здоровых взрослых до 49 и 59 лет, соответственно. В Великобритании и Германии ЖГВ преимущественно рекомендуется для вакцинации детей. ЖГВ не рекомендуется для пациентов с иммуносупрессией и тех, кто ухаживает за такими пациентами.

Направления исследований в области вакцинопрофилактики гриппа сосредоточены на разработке вакцин с максимально широким спектром действия, защищающих от дрейфовых вариантов вирусов гриппа и обеспечивающих формирование длительного иммунитета. ЖГВ в полной мере отвечает этим требованиям. Показано, что ЖГВ обеспечивала до 60,0 % эффективности (95 % CI: 6.1–81.7) против аналогичного антигенного варианта в следующем эпидемическом сезоне без ревакцинации. Интраназальное применение ЖГВ стимулирует местный иммунитет и Т-клеточный иммунный ответ и предотвращает заболевание дрейфовыми вариантами вирусов, не включенными в состав вакцины.

Несмотря на то, что рекомендации по вакцинации против гриппа были разработаны

почти 30 лет назад, до сих пор охват прививками среди медработников редко превышает 40 % вследствие заниженной оценки риска заболевания гриппом и недостатка данных о безопасности и эффективности вакцин.

Выводы. Иммунизация медицинских работников является одной из основных мер профилактики гриппа для защиты не только персонала медицинских учреждений, но и, косвенным образом, пациентов, которые не могут быть естественным образом иммунизированы или привиты, что особенно важно в случае пациентов с иммунодефицитными состояниями. Таким образом, вакцинация против гриппа является эффективным инструментом для повышения инфекционной безопасности в медицинских учреждениях.

*Игнатъев С. В., Минаева Н. В., Лянгузов А. В., Зорина Н. А., Хоробрых Н. В.,
Ермачкова М. Ю., Попцов А. Л., Калинина С. Л.*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ КРОВотоКА У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

Введение. Считается, что катетер-ассоциированные инфекции кровотока (КАИК) в клинической практике составляют более 60 % всех госпитальных бактериемий. По данным центра по контролю заболеваемости (США), КАИК в 10 % случаев приводят к фатальным последствиям. КАИК устанавливают при сочетании следующих критериев: 1) первичная бактериемия или фунгемиа у пациентов с сосудистым катетером, 2) синдром системного воспалительного ответа (ССВО), 3) отсутствие других явных источников инфекции, 4) выделение с поверхности катетера количественным или полуколичественным методом того же микроорганизма, что и из крови, 5) пятикратная разница количества микробных клеток в гемокультурах, взятых одновременно из центрального венозного катетера (ЦВК) и периферической вены, или при дифференциальном времени до положительного результата этих гемокультур (более 2 часов). Во всех остальных случаях КАИК является сомнительной.

Пациенты гематологических клиник относятся к наиболее уязвимой для инфекцион-

ных осложнений категории больных. Это обусловлено проводимой химиотерапией, иммунодепрессией, а также развитием резистентности внутрибольничной микрофлоры к антибактериальным препаратам. Вследствие этого необходимо строго соблюдать правила асептики при уходе за ЦВК и регулярно проводить микробиологический мониторинг.

В клинике ФГБУН КНИИГиПК разработан и внедрен стандарт ухода за ЦВК, регулярно проводятся бактериологические исследования образцов крови.

Цель исследования. Установить частоту развития КАИК в отделении химиотерапии и трансплантации костного мозга (ХТиТКМ).

Материалы и методы. В исследование включено 72 пациента, получавших высокодозную химиотерапию по поводу резистентного течения онкогематологического заболевания или трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток в отделении ХТиТКМ в 2015 году. У 60 из них был установлен ЦВК. Средняя продолжительность использования ЦВК составила 21 день. При развитии ССВО

проводились исследования по выявлению очага инфекции, посева крови из периферической вены и ЦВК. При удалении все катетеры подвергались бактериологическому исследованию.

Результаты. Общая длительность нахождения ЦВК составила 1260 катетеро-дней. Признаки ССВО выявлены у 54 (90 %) больных. Очаги инфекции при развитии ССВО выявлены у 21 (35 %) пациента. У 10 (16,7 %) лиц определена положительная гемокультура, у 6 (10 %) из них выделены грамположительные кокки (*S.epidermidis*, *S.aureus*, *S.caprae*, *S.hominis*), грамотрицательная флора — у 4 (6,7 %) (*Enterobacter spp.*, *E.coli*, *Ps.aeruginosa*). Ни в одном случае выделение положительной гемокультуры не удовлетворяло критериям КАИК.

Признаков местного воспаления при удалении ЦВК не выявлено ни у одного больного. Положительные результаты посева ЦВК

после удаления были отмечены у 5 пациентов (8,3 %). В посевах преобладали сапрофиты кожи: *S.epidermidis*, *S.saprophyticus*, что могло быть следствием контаминации при нарушении техники удаления ЦВК. Ни в одном случае результаты положительной гемокультуры и посева удаленного ЦВК не совпали.

Выводы:

1. У пациентов отделения ХТиТКМ отмечена высокая частота развития ССВО (90 %), при этом очаг инфекции установлен у 1/3 больных.
2. При проведении микробиологического мониторинга гемокультуры не выявлено развитие КАИК, несмотря на наличие положительных посевов крови в 16,7 % случаев.
3. Внедренный стандарт ухода за ЦВК эффективно предотвращает развитие КАИК.

Ильинских Н. Н., Ильинских Е. Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОЯДЕРНОГО АНАЛИЗА
В ОЦЕНКЕ ВИРУСНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ГЕМОТРАНСФУЗИЙ**

Введение. Согласно Приказу Минздрава (от 2 апреля 2013 г. N183н) донорская кровь в обязательном порядке должна проверяться на маркеры вирусов иммунодефицита человека, гепатитов В и С и возбудителя сифилиса. Совершенно очевидно, что этого явно недостаточно поскольку в крови могут присутствовать и другие опасные для здоровья реципиента вирусы: гепатита А, Е, «дельта», Т-клеточного лейкоза (HTLV-I, — II), парвовирус В19, герпесвирусы (цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр), а также относительно недавно появившийся на территории России — вирус Западного Нила.

Известно, что практически все вирусы способны индуцировать в клетках человека разнообразные хромосомные aberrации (Ильинских с соавт., 2010). Изменения в цитогенетическом аппарате наблюдаются уже через 1–3 дня после госпитализации инфекционного больного. Повышенный уровень клеток с нарушениями в структуре и числе хромосом наблюдается и при хронических инфекциях.

Впервые об использовании хромосомного метода для тестирования донорской крови на носительство вирусов гепатита была предложена в 1976 году В. И. Баринским. Метод не нашел широкого применения, поскольку хромосомный анализ клеток весьма трудоёмок и составляет не менее 3-х рабочих дней для одного обследуемого. В настоящее время для массового скрининга и мониторинга цитогенетической нестабильности широко применяется микроядерный анализ соматических клеток человека (лейкоцитов, эритроцитов и эпителиоцитов). В зависимости от задач и типа анализируемых клеток временные затраты при использовании микроядерного теста могут составлять от 0,5 до 1,5 часа. Микроядра возникают из фрагментов хромосом, которые лишены центромера и поэтому исключаются из клеточных ядер в момент деления клеток. Иными словами, они являются ацентрическими фрагментами, возникшими в результате структурных нарушений хромосом и не попавшими во вновь форми-

рующееся ядро при делении клеток. Кроме того, они могут образовываться из хромосом, оставшихся в анафазе при делении клетки. Таким образом, использование микроядерного теста в его классическом варианте позволяет фиксировать мутации как хромосомного (делеции), так и геномного (анеуплоидии) типов. Эритроциты человека в норме не содержат ядер, поскольку они устраняются в процессе созревания эритроцита, при этом микроядра в отличие от ядра зачастую остаются в клетке.

Цель. Настоящая работа выполнена с целью определения в крови числа эритроцитов с микроядрами, как метода, позволяющего определить возможное вирусоносительство у сдавшего кровь донора.

Материал и методы. Материалом для микроядерного анализа послужила кровь 426 доноров, полученная со станций переливания крови. Капля крови наносилась на чистое сухое предметное стекло для приготовления мазка. Препараты высушивались на воздухе в течение нескольких часов. Приготовленные мазки фиксировались в метиловом спирте в течение 10 мин и затем высушивались. Окрашивание проводили в растворе азур-эозинового красителя Романовского-Гимза (1:5) на дистиллированной воде в течение 20 мин, препараты хорошо промывали. Полученные образцы (от каждого лица) шифровались и подвергались микроскопическому цитогенетическому анализу, основанному на регистрации эритроцитов с микроядрами. Для исследования на микроядерный тест были просмотрены по 2–3 препарата от каждого человека. Поскольку частота встречаемости эритроцитов крови с микроядрами у человека низка, то в каждом случае анализировали около 10000 клеток полями зрения (приблизительно 50 полей зрения). Число эритроцитов с микроядрами пересчитывали в промилле. Микроядра отличали от артефактов в соответствии с ранее изложенными рекомендациями (Ильинских с соавт., 2011). На основании анкетного опроса каких-либо факторов, способных индуцировать цитогенетические нарушения у обследованных доноров, не выявлено. Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета статистических программ STATISTICA v.6.0. Частоты наблюдаемых кариопатологий рассчитывали в программе "The EH Software Program, Rockefeller University, NY". Все коли-

чественные показатели исследования обрабатывали с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок, поскольку тестирование закона распределения при помощи критерия Колмогорова-Смирнова не выявило отличий от нормального. Различия сравниваемых результатов ($X \pm m$, где X — выборочное среднее арифметическое, m — ошибка среднего арифметического) считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Полученные данные свидетельствуют о том, что уровень эритроцитов с микроядрами у разных доноров варьировал от 0,12 до 10,24‰ при среднем значении $0,64 \pm 0,23\%$. У женщин эта величина составила $0,52 \pm 0,12\%$, у мужчин — $0,64 \pm 0,18\%$ ($p > 0,05$), у лиц в возрасте от 18 до 35 — $0,32 \pm 0,10\%$, а в возрасте от 36 до 55 лет — $0,58 \pm 0,18\%$ ($p > 0,05$). У курящих — $0,72 \pm 0,19\%$ и у некурящих — $0,52 \pm 0,22\%$ ($p > 0,05$). У жителей города — $0,68 \pm 0,20\%$ и у жителей села — $0,43 \pm 0,15\%$ ($p > 0,05$).

Среди 426 доноров методом ПЦР анализа обнаружено 4 носителя вируса гепатита С (уровень эритроцитов с микроядрами — $10,24 \pm 1,22\%$), 6 доноров — носителей гепатита В (показатели микроядерного теста $6,34 \pm 1,18\%$), 2 — сифилиса ($3,51 \pm 0,58\%$). Помимо этого, высокие показатели микроядерного теста были определены у 8 доноров ($5,94 \pm 1,27\%$), у которых обычный анализ не выявил наличие гепатитов В, С и сифилиса. Использование дополнительных методов анализа позволило выявить в 2 случаях наличие цитомегаловируса ($6,51 \pm 0,58\%$), в 3 — вируса Эпштейна-Барр ($4,31 \pm 0,92\%$) и в 1 — вируса Западного Нила ($7,09 \pm 1,24\%$). В 2 вирусоносительства донора не было определено.

Выводы. Таким образом, полученные нами данные позволяют сделать заключение о том, что внедрение микроядерного анализа в определение вирусоносительства представляется весьма актуальным методом, позволяющим без особых затрат времени, материалов и аппаратуры выявлять опасную для переливания кровь, что может помочь обезопасить процесс трансфузиологических процедур.

Благодарность. Настоящее исследование было проведено при финансовой поддержке грантов РФФИ № 06–44–700149 и частично РГНФ № 15–06–10190.

Исаков В. А.¹, Ермоленко Д. К.², Исаков Д. В.³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

² Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Санкт-Петербург

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург

СИСТЕМЕ ЭТАПНОГО ЛЕЧЕНИЯ ГЕРПЕСА 25 ЛЕТ

Противогерпетические химиопрепараты (ПХ) быстро купируют острые проявления герпеса, но не предотвращают повторного рецидивирования герпетической инфекции (РГИ) и не снижают частоту рецидивов. Необходимо продолжить лечение в межрецидивный период с целью закрепления терапевтического эффекта, коррекции иммунологических нарушений и создания благоприятных условий для вакцинации герпетической вакциной.

Изложенные общие принципы терапии ГИ определяют комплексный системный подход к лечению ГИ, причем в случае РГИ необходимо проведение терапии в четыре взаимосвязанных между собой этапа (Исаков В. А., Ермоленко Д. К., 1991). Длительность, интенсивность и объем терапевтических вмешательств определяются клинической формой и тяжестью заболевания, периодом болезни, возрастом, наличием осложнений и сопутствующей патологии, а также характером иммунологических нарушений: транзиторные нарушения, иммунодефицит с преобладанием Th1-, либо Th2-типа иммунного ответа (Исаков В. А., 1997; Халдин А. А., 2002).

I этап — лечение в острый период болезни (рецидив): комплексная терапия препаратами с различным механизмом действия (ПХ, ИФН или его индукторы, иммуномодуляторы, антиоксиданты, системная энзимотерапия — СЭТ).

II этап — терапия в стадии ремиссии, после стихания основных клинических проявлений (ранняя реконвалесценция, 8–15-й дни рецидива). Основная цель — достижение клинко-иммунологической ремиссии, подготовка больного к вакцинотерапии. Иммуномодуляторы, СЭТ, растительные адаптогены.

III этап — специфическая профилактика рецидивов ГИ с использованием инактивированных герпетических вакцин (ИГВ) после

достижения клинко-иммунологической ремиссии (через 3–4 недели после завершения рецидива). Цель вакцинации — активация клеточного иммунитета, его иммунокоррекция и специфическая десенсибилизация организма. Вакцинацию проводим с использованием иммуномодуляторов и/или индукторов ИФН.

IV этап — диспансерное наблюдение и реабилитация больных ГИ. Предложенная система этапного лечения больных РГИ, в т. ч. генитальным герпесом (ГГ), поддержана практикующими врачами и учеными (Арбузова И. А. и др., 2000; Белозеров Е. С., Буланьков Ю. И., 2005; Ершов Ф. И., Романцов М. Г., 2007; Макарова И. В., 2011; Мокеева М. В., 2003; Халдин А. А. и др., 2008; Хахалин Л. Н., 1998).

Сложным для лечения является тяжёлый ГГ с монотонным типом рецидивирования (ГГМТР, «менструальный герпес»), характеризующийся ежемесячными обострениями инфекционного процесса. Такое течение заболевания может стать для женщины сильнейшим психотравмирующим фактором, ограничивающим её социальную активность и снижающим качество жизни. Европейские стандарты лечения пациенток ГГМТР предусматривают длительную (годами) супрессивную терапию ПХ (аналоги нуклеозидов), что не исключает повторного рецидивирования ГГ и бессимптомного вирусовыделения, появления побочных эффектов и резистентности вирусов герпеса к ПХ.

Для лечения и профилактики рецидивов ГГ у данной категории больных нами впервые предложена двухэтапная терапия: сочетанное использование противовирусных средств и препаратов ИФН и/или его индукторов (подготовительный этап) с последующей противорецидивной вакцинотерапией, которую проводили ИГВ «Витагерпавак» по алергометрической методике (Ермоленко Д. К., Исаков В. А., 2011).

Пролечено 100 пациенток с ГГМТР (частота рецидивов 12 и более в год), которых разделили на 4 группы (по 25 человек в каждой) в зависимости от характера получаемой терапии:

- 1 группа — получали перорально фамвир по 0,125 г 2 раза в сутки в течение 5 дней;
- 2 группа — фамвир (препарат назначали во всех группах по той же схеме) в сочетании с амиксином по 0,125 г, двое суток ежедневно, затем через 48 часов, в курсовой дозе 2,5 г;
- 3 группа — фамвир совместно с циклофероном по 2 мл 12,5 % раствора внутримышечно ежедневно в 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20 и 23-й дни лечения;
- 4 группа — фамвир в сочетании с интерферон-3 (ректальные суппозитории по 1 млн. МЕ ИФН- α 2b). Свечи использовали 2 раза в сутки первые 10 дней, затем ещё 20 дней через день.

После проведения подготовительной терапии 40 пациенток (с продолжительностью ремиссии от 32 до 68 дней) отобрали для дальнейшей противорецидивной вакцинотерапии, которую начинали не ранее чем через 2 недели после завершения подготовительного лечения.

Показано, что предложенный нами двухэтапный метод лечения больных ГГМТР способствует достоверному увеличению коэффициента ИФН/ИЛ-4, что отражает усиление Тх1- и подавление Тх2-зависимых иммунных реакций (последние не ассоциированы с протективным иммунитетом при лечении рецидивов ГИ, а также при вакцинотерапии). Уменьшились частота и сроки рецидивов заболевания у 85 % больных, улучшилось качество жизни и повысился уровень социальной адаптации пациентов.

Карабак И. А., Карев В. Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ОРГАНОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Введение. Общеизвестно, что у гематологических больных иммунодефицитные состояния обусловлены как течением основного заболевания, так и длительной химиотерапией, а также прочими факторами. При этом в первую очередь возникают инфекционные осложнения, которые в таких обстоятельствах зачастую характеризуются тяжелым и нетипичным течением. Адекватная коррекция терапии требует качественной и быстрой дифференциальной диагностики различных инфекционных осложнений между собой и с другими патологическими процессами.

Современные возможности лабораторной диагностики, включая высокочувствительные и высокоспецифичные молекулярно-биологические методы, не позволяют с уверенностью дифференцировать этиологию конкретных локальных патологических изменений, особенно в условиях часто встречающихся микст-инфекционных поражений и персистенции в крови нескольких вирусных патогенов. В таких обстоятельствах им-

муноморфологические методы диагностики с выявлением экспрессии антигенов возбудителей инфекционных заболеваний в ткани и ее визуализацией, в совокупности с анализом характера и выраженности патологических изменений, приобретают высокую значимость и эффективность.

Опыт работы с пациентами, страдающими иммунодефицитными состояниями разного происхождения, свидетельствует о высокой частоте протекающих у них инфекционных процессов вирусной, бактериальной и микотической этиологии, в том числе в виде микст-инфекции. Особого внимания заслуживают вирусные инфекционные процессы, диагностика которых другими лабораторными методами особенно сложна и зачастую неоднозначна.

Цель работы — проиллюстрировать возможности современных иммуноморфологических методов диагностики для решения проблемы дифференциальной диагностики инфекционных поражений органов желудоч-

но-кишечного тракта у гематологических больных.

Материалы и методы. Материалом исследований являлись биоптаты слизистой оболочки желудка, 12-перстной кишки, тонкого и толстого кишечника, полученные в ходе диагностических эндоскопических манипуляций. Выполнялась стандартная гистологическая проводка образцов ткани, изготовленные из парафиновых блоков срезы окрашивались гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону и альциановым синим. Иммуногистохимические исследования выполнялись согласно рекомендациям производителей реагентов, использовались кроличьи поликлональные или мышинные моноклональные антитела к антигенам вируса простого герпеса 1 и 2 типов, цитомегаловируса и аденовируса, антитела к маркерам клеточной дифференцировки (CD4 и CD8) и полимерная иммуногистохимическая система визуализации UltraVision Quanto DAB (Thermo, США) Использовались гистологический и иммуногистохимический методы.

Результаты. В нашей лаборатории накоплен большой опыт морфологической диагностики вирусных инфекционных процессов с использованием метода иммуногистохимии, который обладает высокой специфичностью и чувствительностью и, что немаловажно, позволяет визуализировать

экспрессию антигенов возбудителей инфекционных заболеваний и осуществлять сопоставления с имеющимися морфологическими изменениями. По нашим данным, среди вирусных патогенов, поражающих органы желудочно-кишечного тракта, наиболее значимыми являются цитомегаловирус, реже — вирус простого герпеса и аденовирус. Морфологические изменения у этого контингента пациентов часто не имеют «классического» характера, как например, в случае цитомегаловирусной инфекции (гигантоклеточная трансформация с формированием «совиного глаза»). Иммуногистохимический метод является оптимальным для дифференциальной диагностики инфекционных поражений слизистых оболочек органов желудочно-кишечного тракта и поражений вследствие развития реакции «трансплантат против хозяина».

Выводы. Таким образом, проблема диагностики инфекционных осложнений с поражением органов желудочно-кишечного тракта у больных гемобластозами является актуальной и очень сложной. Однако дополнение рутинной микроскопии иммуноморфологическим методом позволяет существенно расширить спектр решаемых задач и значительно повысить диагностическую ценность морфологических исследований у этой категории пациентов.

Киселева Е. Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

АЛГОРИТМ ВЫЯВЛЕНИЯ И ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ В КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА

Введение. Генерализованные бактериальные инфекции являются тяжелыми осложнениями у гематологических больных, пациентов отделений интенсивной терапии, а также у лиц, подвергающихся воздействию неблагоприятных экологических и производственных факторов (ионизирующее излучение, компоненты ракетного топлива и др.) и других иммунокомпрометированных больных. Успех в лечении сепсиса определяется правильностью выбора стартовой эмпирической антибактериальной терапии, так как существующие микробиологические методы диагностики позволяют выявить

возбудителя слишком поздно для принятия своевременных лечебных мер. Поэтому существует настоятельная необходимость совершенствования методов ранней диагностики бактериемии и сепсиса.

Цель исследования. Разработать алгоритм выявления и видовой идентификации бактерий в крови онкогематологических больных с использованием молекулярно-биологического метода.

Материалы и методы. Проведен анализ литературных и собственных данных для определения спектра основных возбудителей бактериемии и сепсиса у онкогематоло-

гических больных. Выявление бактериальных возбудителей в крови при бактериемии и сепсисе проводили с помощью автоматического бактериологического анализатора с последующей родовой и видовой идентификацией молекулярно-биологическим методом (ПЦР в «реальном времени»). Контроль идентификации проводили общепринятыми микробиологическими методами.

Результаты. Разработан алгоритм, состоящий в следующем: производится посев и культивирование крови в бактериологическом анализаторе. При наличии роста из флакона, содержащего положительную культуру, отбирается проба для проведения родовой и видовой идентификации молекулярно-биологическим методом. Если выявляются

грамотрицательные бактерии, то пробу дополнительно тестируют на наличие карбапенемаз. При выявлении *Staphylococcus spp.* проводится дополнительное тестирование для определения метициллинрезистентности, после чего общий результат анализа сообщается врачу. При отсутствии роста в течение 7 суток врачу сообщается результат «роста нет».

Выводы. Предложен оптимизированный алгоритм выявления и идентификации бактерий в крови онкогематологических больных с использованием молекулярно-биологического метода. При получении положительной гемокультуры данный алгоритм позволяет идентифицировать выделенные патогены в течение 5–7 часов.

Киселева Е. Е., Чеботкевич В. Н., Бессмельцев С. С., Стижак Н. П., Кайтанджан Е. И., Бурылев В. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

КЛИНИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФЕКЦИЙ КРОВОТОКА У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Введение. Инфекции кровотока являются опасными для жизни осложнениями у пациентов с гемобластозами.

Целью работы явилось изучение клинико-микробиологической характеристики бактериемий и фунгемий у иммуносупрессированных онкогематологических больных, а также уточнение роли герпесвирусных инфекций в их развитии.

Материалы и методы. Изучено 438 штаммов бактерий, выделенных из крови 360 больных различными формами гемобластозов за период с 1991 по 2013 гг. Бактериологические анализы проводили по единой методике в течение всего периода исследования, в соответствии с действующей нормативной документацией. Для выявления в крови геномов вирусов группы герпеса [вируса герпеса простого 1 и 2 типов (ВПГ 1,2), цитомегаловируса (ЦМВ), вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) и вируса герпеса человека 6 типа (ВГЧ 6)] использовали ПЦР в мультипраймерном формате с детекцией в режиме реального времени. Представлены результаты обследования 64

онкогематологических больных с инфекционными осложнениями с выявленными эпизодами бактериальных и грибковых инфекций кровотока. Все пациенты получили эмпирическую противoinфекционную терапию с последующей коррекцией на основании результатов бактериологических, вирусологических и микологических анализов.

Результаты и обсуждение. В общей сложности грамположительные микробы выявлены в 69,2 % гемокультур, грамотрицательные — в 30,8 %. Среди грамположительных бактерий наиболее частыми патогенами были коагулазонегативные стафилококки и золотистый стафилококк (58,8 %), среди грамотрицательных — кишечная палочка (13,0 %). Показано, что развитие бактериемии у больных достоверно чаще возникает на фоне обнаружения геномов ЦМВ и ВЭБ в крови.

Выводы. Обоснована необходимость постоянного мониторинга возбудителей инфекций у онкогематологических больных при назначении эмпирической и этиотроп-

ной терапии. Развитие сепсиса достоверно чаще происходит на фоне обнаружения геномов вирусов группы герпеса в крови

и присоединения грибковых инфекций, что увеличивает тяжесть течения основного заболевания.

Кузнецов С. И., Кудинова Е. В., Гуменова В. Н., Киселева Е. В., Суслина О. В.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Самарская областная клиническая станция переливания крови», г. Самара

ОПЫТ ОБСЛЕДОВАНИЯ ДОНОРОВ КРОВИ НА ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ С ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ В СЛУЖБЕ КРОВИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Введение. Гепатит С — это болезнь печени, вызываемая вирусом гепатита С: он может повлечь как острую, так и хроническую инфекцию гепатита, которая варьирует по тяжести от легкой болезни, продолжающейся несколько недель, до серьезной пожизненной болезни. По приблизительным оценкам, вирусом гепатита С инфицировано в мире около 180–200 миллионов человек, что составляет приблизительно 3 % общемировой популяции. Ежегодно вирусом гепатита С инфицируется порядка 3-х миллионов человек, а смертность от осложнений составляет около 1 миллиона человек в год, в наибольшей степени он распространён в Африке и Центральной Азии. В Российской Федерации за последние 20 лет наблюдается неуклонный рост числа инфицированных вирусом гепатита С. Согласно различным экспертным оценкам, в настоящее время в России насчитывается от 2 до 5 миллионов больных хроническим гепатитом С (ХГС), при этом отмечается наиболее высокая интенсивность эпидемии в возрастной группе от 20 до 39 лет, среди них ХГС составляет 61 % всех случаев заболевания. Необходимо подчеркнуть, что именно эта возрастная группа составляет основу донорского движения. В службе крови Самарской области для обследования доноров на гемотрансмиссивные инфекции наряду с обязательным иммунологическим методом — иммуноферментным анализом (ИФА), используется молекулярно-биологический метод — полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Цель. Проанализировать результаты исследований, полученных при скрининге крови доноров методом ИФА и ПЦР на вирусный гепатит С за 2015 год и 6 месяцев 2016 года.

Материалы и методы. Кровь доноров обследовалась на следующий день после донации методом ИФА на содержание антител к вирусу гепатита С на иммуноферментном анализаторе EVOLIS, Bio-RAD, Франция с помощью наборов Бест анти-ВГС-авто, ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск. Пробы, положительные в ИФА, анализировали в подтверждающем тесте на наличие антител к индивидуальным белкам ВГС с помощью наборов Бест анти-ВГС-спектр, ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск. Одновременно с ИФА, либо после ИФА, образцы от тех же доноров обследовались методом ПЦР на РНК ВГС на системе Cobas s201, ROCHE с помощью дискриминационного теста Cobas TaqScreen MPX Test, v 2.0., либо в ламинарном боксе наборами РеалБест ВГС ПЦР, ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, с последующей амплификацией и детекцией в режиме реального времени на амплификаторе CFX-96, Bio-RAD, Франция.

Результаты. За вышеуказанный период методом ИФА было обследовано 38649 кроводач, выявлено 265 положительных результатов (0,7 %). Они были проанализированы в подтверждающем тесте, из них: 178 — положительных (67 %); 46 — неопределенных (17 %); 41 — отрицательный (16 %). Наряду с положительными результатами ИФА у доноров было получено 23 положительных результата ПЦР, и выявлено 2 случая «серологического окна», отрицательных в ИФА.

Вывод. Опыт нашей работы подтверждает необходимость применения в службе крови молекулярно-биологических методов наряду с иммунологическими с целью повышения вирусной безопасности гемотрансфузий.

Лянгузов А. В., Калинина С. Л., Зорин В. А., Минаева Н. В., Самарин А. Б., Лагунов В. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

ПОРТ-АССОЦИИРОВАННЫЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

Введение. Проведение современных схем химиотерапии при лечении гемобластозов невозможно без обеспечения центрального венозного доступа. Применение полностью имплантированных венозных порт-систем у онкологических больных позволило улучшить качество жизни, снизить частоту развития ятрогенных осложнений катетеризации центральных вен. Вместе с тем ряд исследователей отмечает повышенный риск развития катетер-ассоциированных инфекций кровотока (КАИК) у этой категории больных. Такие инфекции приводят к удлинению сроков лечения, повышению летальности. В ведущих клиниках показатель частоты развития КАИК не превышает 2 случаев на 1000 катетеро-дней.

Цель. Оценить частоту развития порт-ассоциированных инфекционных осложнений у пациентов с заболеваниями системы крови.

Материалы и методы. В одноцентровое проспективное исследование включено 69 пациентов, которым с 2012 по 2015 год произведена имплантация венозной порт-системы. Подавляющее большинство составили больные острым лимфобластным лейкозом — 40 человек (58 %), острым миелобластным лейкозом — 9 человек (13 %), неходжкинской лимфомой — 8 (12 %), лимфомой Ходжкина — 6 (9 %), множественной миеломой — 3 (4 %), другие — 3 (4 %). Мужчин — 24 (35 %), женщин — 45 (65 %). Медиана возраста составила 36 лет, детей моложе 7 лет — 18 (26 %). У 47 (68 %) пациентов доступом послужила правая подключичная вена, у 18 (26 %) — правая внутренняя яремная, у 3 (4 %) — левая

подключичная, у 1 (1 %) — правая бедренная. У больных острым лейкозом имплантация осуществлялась для проведения долгосрочной химиотерапии после достижения ремиссии. Имплантация производилась с УЗИ-навигацией, рентгенологическим контролем. Постановка и использование игл Губера и инфузионных систем осуществлялись в асептических условиях круглосуточного стационара высококвалифицированным персоналом.

Результаты. Средний период использования порт-систем составил 635 катетеро-дней, максимальный срок установки — 1317 дней. Порт-ассоциированная инфекция была выявлена у 6 больных (9 %): инфекция мягких тканей в области камеры порта обнаружена у 2 пациентов на 311 и 381 день соответственно, инфекция по ходу туннелизованного под кожей катетера — у двоих на 20 и 22 дни. У одного пациента была диагностирована КАИК, обусловленная *S. maltophilia* на 191 день, еще у одного — бактериальный эндокардит. Во всех этих случаях порт-система была удалена. В четырех случаях для купирования инфекционных осложнений потребовалось проведение системной антибактериальной терапии. Суммарно частота развития порт-ассоциированной инфекции составила 0,02 случая на 1000 катетеро-дней.

Вывод. Частота развития порт-ассоциированных инфекций у больных гемобластозами невысока (менее 1 случая на 1000 катетеро-дней). Улучшение качества жизни пациентов при использовании порт-системы определяет приоритет данного вида центрального венозного доступа у этой категории больных.

Маевская О. Л., Коржель Т. С., Потаннев М. П., Карпенко Ф. Н.

*Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии
и медицинских биотехнологий», г. Минск, Республика Беларусь*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ ДОНОРСКОЙ КРОВИ НА МАРКЕРЫ ТРАНСФУЗИОННО-ТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Введение. Обследование донорской крови на маркеры инфекционных заболеваний с помощью высокочувствительного иммуноферментного и иммунохемилюминисцентного анализа (ИФА и ИХЛА соответственно) и метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволяет обеспечить высокий уровень вирусной безопасности продуктов крови, полученных из донорской крови.

Цель. Оценить эффективность тестирования донорской крови методами иммуноферментного и молекулярно-генетического анализа на вирусные патогены.

Материалы и методы. Проанализированы данные обследования в 2010–2014 годах на наличие инфекционных патогенов — вируса гепатита В (ВГВ), вируса гепатита С (ВГС), вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) 427042 образцов сыворотки доноров крови, в том числе методом ПЦР в режиме реального времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией — 18664 образцов свежемороженой плазмы, находящейся на карантинном хранении, и 1130 образцов сыворотки крови с уровнем АлАТ 80–160 Е/л.

Результаты. При скрининге образцов донорской крови методом ИХЛА выявлено 0,1 % проб, серопозитивных на HBsAg, 0,4 % проб — на ВГС, 0,07 % — на ВИЧ. Повторное исследование первично-положительных проб с использованием исходной тест-системы показало аналогичные результаты, тогда как тестирование донорской крови методом ИФА другого производителя (подтверждающий тест) выявило 28,3 % проб положительных на анти-ВГС, 37,6 % положительных проб на HBsAg и 14,1 % положительных проб на ВИЧ. Молекулярно-генетическое

тестирование донорской крови методом ПЦР подтвердило первично-положительные результаты иммуноферментного тестирования в 16,8 % проб на ВГС, 34,9 % проб на ВГВ и 11,4 % проб на ВИЧ. ПЦР-тестирование 18664 образцов свежемороженой плазмы (в пулах по 6), находящейся на карантинном хранении, скрининговое исследование которой на маркеры вирусных инфекций методом ИФА показало отрицательный результат, выявило вирусный гепатит С в 2 пулах (0,01 %). Повторное тестирование в индивидуальном формате подтвердило наличие в 2 пробах РНК ВГС. Молекулярно-биологическое исследование образцов сыворотки крови с уровнем АлАТ 80–160 Е/л выявило 2 из 1130 проб (0,18 %), позитивных на наличие РНК ВГС, тогда как серологическое тестирование данных образцов на антитела к ВГС методом ИХЛА показало отрицательный результат.

Выводы. Двухэтапное серологическое тестирование донорской крови (методом ИФА и/или ИХЛА) позволяет снизить в 4–7 раз показатели инфицирования на маркеры ВГВ, ВГС, ВИЧ заготовленной донорской крови. Молекулярно-генетическое обследование образцов сыворотки донорской крови позволяет снизить в 3–7 раз количество положительных проб на наличие инфекционного генома среди серологически первично-положительных образцов донорской крови, а также выявлять положительные результаты тестирования на ВГС образцов плазмы, находящейся на карантинном хранении и с повышенным в 2 и более раз уровнем АлАТ при отрицательных результатах серологического тестирования.

Макеев А. Б., Матвеева Т. А., Беркос М. В., Киселева Е. А., Ефимова Т. А., Хейшхо Н. А., Витюк Н. Г., Шаланкевич А. И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ЗАГОТАВЛИВАЕМОЙ КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ

Введение. Проблема гемотрансмиссивных инфекций по-прежнему является важнейшей проблемой современной трансфузиологии. Ее решение, наряду с совершенствованием лабораторной диагностики гемотрансмиссивных инфекций, во многом зависит от рациональной организации донорства и тщательного отбора донорского контингента.

Цель. Оценить возможности организации и проведения предварительного обследования доноров как способа повышения эффективности инфекционной безопасности заготавливаемой крови и ее компонентов.

Материалы и методы. В период с 1995 по 2012 г.г. в ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», г. Санкт-Петербург, было организовано предварительное обследование доноров крови и ее компонентов. Этапами предварительного обследования доноров являлись: 1) проверка данных донора по единому донорскому центру г. Санкт-Петербурга; 2) первичный врачебный осмотр; 3) взятие анализов у донора на маркеры трансмиссивных инфекций; 4) оценка полученных результатов и решение о допуске донора к донации. За указанный период было обследовано более 60 тысяч доноров крови и ее компонентов.

Результаты. В начале 90-х годов двадцатого века в институте выявление маркеров гемотрансмиссивных инфекций было значительно выше, чем на Городской станции переливания крови. В этих условиях приказом директора института, начиная с 1995 г. было введено предварительное обследование доноров крови и ее компонентов. Уже в 1996 г. это привело к значительному снижению обнаружения маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров крови и ее компонентов. В период с 2000 по 2012 г. г. частота выявления маркеров гепатита В у доноров института варьировала от 0,02 до 0,30 % и имела тенденцию к снижению. В отличие от этого, антитела к гепатиту С в течение периода всего наблюдения выявлялись в 2–2,5 раза чаще. Выявление маркеров сифилиса начиная с 2000 г.

снизилось с 0,7 % до 0,4 % в 2012 г. За указанный период времени (с 1995 по 2012 г. г.) случаи обнаружения в крови доноров института ВИЧ-инфекции были единичными. Повышение уровня аланинаминотрансферазы в крови доноров снизилось с 1995 по 2012 г. г. в 3,8 раза. Частота встречаемости маркеров гемотрансмиссивных инфекций в крови кадровых доноров института была несколько ниже, чем у первичных. В целом же инфицированность доноров нашего института в 2000–2012 г. г. была на порядок ниже, чем на СПК Санкт-Петербурга. Это связано с тем, что доноры заранее предупреждались о тестировании их крови на гемотрансмиссивные инфекции перед донацией. Поэтому граждане нашего города, знающие о своих недугах, в наш институт с целью сдачи крови в этот период времени не обращались. Данные лабораторных анализов анализировались врачами-трансфузиологами донорского отдела ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России». В зависимости от данных врачебного осмотра и результатов лабораторного исследования донор допускался или не допускался к сдаче крови или к процедуре цитафереза. Поэтому в течение 1995–2012 г. г. брака заготовленной крови или ее компонентов практически не отмечалось, за исключением единичных случаев разрыва гемоконтейнеров.

О качестве предварительного медицинского обследования свидетельствует и тот факт, что с момента введения предварительного обследования в клиниках ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России» в течение всего указанного периода не было зафиксировано случаев передачи гемотрансмиссивных инфекций пациентам клиник при переливании компонентов крови.

Выводы. Таким образом, организованное в ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России» предварительное обследование доноров является эффективным способом повышения инфекционной безопасности заготавливаемой крови и ее компонентов.

Москалев А. В., Рудой А. С.

*Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования
«Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации», г. Санкт-Петербург*

ИНФОРМАТИВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОФИЛЕЙ TGF- β У ЛИЦ С УСТАНОВЛЕННОЙ ИММУНОСУПРЕССИЕЙ

Введение. Профили цитокинов, факторов роста являются важнейшими показателями, отражающими состояние иммунного гомеостаза у обследуемых. Особенно информативными они являются у лиц, у которых в силу различных причин сформировалось иммунодефицитное состояние. В последнее время показано, что динамика профилей трансформирующего ростового фактора β (TGF- β) является чрезвычайно важной у лиц с установленной иммуносупрессией. Это связано с тем, что TGF- β вовлечен в различные физиологические и патофизиологические процессы. У млекопитающих существуют три изоформы TGF- β (TGF- β ₁, TGF- β ₂, TGF- β ₃). TGF- β проявляют три основных типа биологической активности: они ингибируют пролиферацию большинства клеток, но могут стимулировать рост некоторых мезенхимальных клеток; они обладают иммуносупрессорным эффектом, усиливают формирование межклеточного матрикса. TGF- β участвуют в репаративных процессах при ранениях, с начала воспалительной реакции и затем вплоть до прекращения воспалительных явлений, посредством хемотаксиса, привлечения воспалительных клеток и фибробластов.

Доказано, что TGF- β ₁ способствует фиброзным процессам, таким образом, его определение можно применять при миелофиброзе и миелоидной метаплазии. Повышение сывороточного уровня TGF- β ₁ зарегистрировано у лиц с аутоиммунной патологией и опухолеассоциированными процессами. Учитывая, что TGF- β ₁-изоформа активно участвует в процессах тканевой репарации, то её профили могут быть использованы как фактор мониторинга ремиссии и активной фазы заболевания у изучаемой категории больных.

Цель. Выявить возможные взаимосвязи профилей TGF- β ₁ в периферической крови

у больных с вторичными иммунодефицитными состояниями в периоды ремиссии и активной фазы заболевания.

Материалы и методы. Осуществлено комплексное обследование 78 больных с вторичными иммунодефицитными состояниями ($22,4 \pm 1,3$ года) в фазе обострения и клинико-эндоскопической ремиссии. Уровни TGF- β ₁ определяли с помощью диагностических тест-систем фирмы Bender MedSystems методом ИФА.

Результаты. Установлены достоверные различия профилей TGF- β ₁ у лиц в период иммуносупрессии — $89,3 \pm 2,1$ пг/мл в сравнении с восстановительным периодом — $65,6 \pm 2,8$ пг/мл, что подтверждает установленную ранее измененную динамику других иммунологических показателей, отражающих сформировавшиеся вторичные иммунодефицитные состояния. При этом уровни TGF- β ₁ были достоверно более низкими (в 3,1 раза) в период восстановления.

Выводы. Таким образом, профили TGF- β ₁ характеризуют активность иммунновоспалительных процессов, позволяют считать, что в основе иммунопатогенеза у данной категории больных лежит повышенная TGF- β ₁-активность, что может являться следствием дефицита многих факторов, как количественного, так и функционального характера. Учитывая, что TGF- β ₁ обладает ингибиторной активностью по отношению к Т- и В-клеточной пролиферации, а также к созреванию и активации макрофагов, ингибированию активности НК-клеток, лимфокин-активированных киллеров и блокированию выработки многих провоспалительных цитокинов, можно считать, что молекула TGF- β играет важнейшую роль в иммунопатогенезе вторичных иммунодефицитных состояний.

Никишов О. Н., Кузин А. А., Свистунов С. А.

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации», г. Санкт-Петербург

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПАРВОВИРУСА В19 ПРИ ОБЕСПЕЧЕНИИ ВИРУСНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ В ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

Введение. Вирусная безопасность при переливании крови и её компонентов является одной из важнейших проблем в трансфузиологии. В стране достигнуты значительные успехи в обеспечении безопасности при переливании крови и её компонентов в отношении основных возбудителей гемотрансмиссивных заболеваний (вирусов гепатитов В и С, вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типа и др.), проводится эпидемиологический мониторинг, разработан и законодательно утвержден алгоритм лабораторного обследования доноров и донорской крови (плазмы) на маркеры данных инфекций. Для дальнейшего развития службы крови научный интерес представляет определение эпидемиологической значимости парвовируса В19, передающегося при гемотрансфузиях. В странах Европы на законодательном уровне принято положение об обязательном тестировании плазмы для фракционирования на наличие ДНК В19 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) как профилактической меры, направленной на снижение риска контаминации препаратов крови данным возбудителем. Данный вирус особенно опасен для беременных женщин, пациентов гематологического профиля, а также лиц, находящихся в состоянии иммуносупрессии.

Цель работы заключалась в оценке частоты встречаемости маркеров парвовирусной инфекции в образцах крови доноров.

Материалы и методы. В ходе работы были исследованы образцы крови доноров из Центра (крови и тканей) ВМедА им. С. М. Кирова на наличие двух маркеров парвовирусной ин-

фекции: Ig-антител (определяли с помощью тест-системы recomWell Parvovirus B19 Ig) и ДНК вируса (использовали набор реагентов «ДНК-сорб-АМ» AmpliSens, диагностический набор «АмплиСенс[®] Parvovirus B19-FL»).

Результаты. Методом ИФА было исследовано 100 сывороток доноров и установлено, что 78 % обследуемых переболели парвовирусной инфекцией (наличие IgG). Методом ПЦР была исследована плазма крови переболевших доноров. Из 76 исследованных образцов (2 забрано) у 19 было выявлено наличие вируса В19 в разных концентрациях. У одного донора в плазме крови выявлено 10^6 копий ДНК парвовируса В19/мл, что превышает «порог безопасности» ($< 10^5$ копий/мл) и указывает на реальную опасность инфицирования парвовирусом В19 при переливании препаратов крови.

Выводы. В результате проведенного исследования были получены данные о частоте встречаемости двух маркеров парвовирусной инфекции (Ig-антитела и ДНК) у доноров, которые не противоречат данным зарубежной литературы. Несмотря на продолжающиеся дискуссии о целесообразности скрининга доноров на маркеры парвовируса В19 ведущие мировые производители крови и её компонентов с 2002 года начали добровольное тестирование на наличие возбудителя этой категории лиц. Включение в перечень обязательного исследования крови доноров данного стандарта способствует исключению проведения трансфузии от доноров, имеющих в крови вирус в концентрации ($\geq 10^5$ копий/мл), потенциально опасной для реципиентов.

Пешняк Ж. В., Коржель Т. С., Сошко С. В., Маевская О. Л., Дашкевич Э. В., Карпенко Ф. Н.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», г. Минск, Республика Беларусь

УРОВЕНЬ ПРОТИВОГЕРПЕСНЫХ АНТИТЕЛ В ПОПУЛЯЦИИ ДОНОРОВ КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Введение. По данным ВОЗ герпесвирусная инфекция является одной из социально значимых нозологий в мире ввиду высокой восприимчивости человека к вирусам герпеса и пожизненной персистенции их в организме инфицированных. Получение донорской гипериммунной противогерпетической плазмы в качестве сырья для производства противогерпетического иммуноглобулина является весьма актуальной задачей для Республики Беларусь, которая позволит решить вопросы профилактики и терапии герпесвирусных осложнений при различных патологических иммуносупрессивных состояниях, сопровождающихся активацией персистирующей герпесвирусной инфекции и приводящих к серьезным осложнениям.

Цель. Изучить уровень противогерпесных антител у доноров крови и компонентов крови Республики Беларусь к наиболее патогенетически значимым в клиническом плане серотипам вируса герпеса для отбора доноров с высокими титрами противогерпесных антител и получения гипериммунной противогерпетической плазмы.

Материалы и методы. У 1157 доноров крови и ее компонентов РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (г. Минск, Республика Беларусь) проведены исследования по выявлению противогерпесных антител класса IgG к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, к цитомегаловирусу, к раннему и капсидному антигенам вируса Эпштейна–Барр. Группу обследованных доноров составили мужчины в возрасте 18–50 лет. Исследование проводили методом иммуноферментного анализа согласно инструкциям производителя наборов, зарегистрированным для клинико-диагностического применения в Республике Беларусь. Для получения сыворотки кровь брали в полистирольные пробирки с шариками без консерванта «Sarstedt» (Германия). В качестве высоких учитывали значения титров в 5 и более раз выше определяемого используемой тест-системой критиче-

ского (порогового) уровня чувствительности.

Инфекционную безопасность сыворотки (плазмы) крови на наличие или отсутствие вирусов простого герпеса, цитомегаловируса и вируса Эпштейна–Барр оценивали методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» согласно инструкциям производителя наборов. Анализ результатов проводился с помощью программного обеспечения амплификатора «ДТ-96» («ДНК-Технология», РФ). Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы Microsoft EXCEL (США).

Результаты. В результате проведенных исследований у 1157 доноров установлено наличие противогерпесных антител класса IgG к вирусу простого герпеса 1 типа у 84,8 % доноров, из них у 55,6 % доноров выявлен высокий уровень антител (титр более 1:1280); антитела класса IgG к вирусу простого герпеса 2 типа выявлены у 51,5 % доноров, из них у 32,8 % доноров определялся высокий уровень данных антител (титр более 1:320). Антитела класса IgG к цитомегаловирусу выявлены у 81,5 % доноров, из них у 51,8 % доноров отмечен высокий уровень антител (содержание более 2 Е/мл сыворотки). У доноров установлен высокий процент встречаемости антител класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна–Барр (выявлены у 96,0 % из 900 обследованных доноров), из них у 70,3 % доноров выявлен высокий уровень данных антител (более 2,0 ЕО). При этом необходимо отметить практически полное отсутствие у доноров антител класса IgG к раннему антигену вируса Эпштейна–Барр (выявлены у 7 (4,2 %) из 167 обследованных доноров), что позволяет предположить отсутствие недавнего инфицирования данным серотипом вируса герпеса обследуемых доноров.

В результате проведенного обследования методом ПЦР 180 образцов сыворотки (плазмы) от 90 доноров, имеющих высокие титры

антител класса IgG к вирусам простого герпеса, цитомегаловирусу и к вирусу Эпштейна-Барр, данные вирусы в сыворотке (плазме) крови обнаружены не были.

Выводы. Проведенные исследования позволили установить неоднородность по качественному (к различным серотипам вируса герпеса) и количественному (наличие высоких и низких титров) составу при определении противогерпесных антител у каждого из обследованных доноров. Методом

ПЦР установлено отсутствие вирусов простого герпеса, цитомегаловируса и вируса Эпштейна-Барр в сыворотке (плазме) доноров с высокими к ним титрами антител класса IgG, что позволяет прогнозировать инфекционную безопасность сырья (гипериммунной противогерпетической плазмы) в плане передачи герпесвирусной инфекции. В РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий создана база данных доноров гипериммунной противогерпетической плазмы.

Реутова А. Г.

Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Детская городская клиническая больница № 5 им. Нила Федоровича Филатова», г. Санкт-Петербург

КАРАНТИНИЗАЦИЯ СВЕЖЕЗАМОРОЖЕННОЙ ПЛАЗМЫ, КАК ОДИН ИЗ МЕТОДОВ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПЕРЕЛИВАНИЙ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ НА ОТДЕЛЕНИИ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ.

Введение. Карантинизация свежзамороженной плазмы (СЗП) — один из методов повышения инфекционной безопасности переливания крови и ее компонентов. Эта процедура введена в практику работы учреждений службы крови приказом МЗ РФ от 07.05.2003 г. № 193.

В соответствии с «Техническим регламентом о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии» при заготовке СЗП должна быть внедрена система карантинизации. Переливать реципиенту можно только карантинизованную или патогенинактивированную плазму.

Цель. Оценить продуктивность процедуры карантинизации СЗП в условиях отделения переливания крови (ОПК) СПб ГБУЗ «Детской городской клинической больницы № 5 им. Н. Ф. Филатова».

Материалы и методы. Годовые отчеты ОПК по карантинизации СЗП за 3 года (2013–2015 гг.).

Результаты. За 3 года на карантинном хранении находилось 2097, 4 литра СЗП.

1570,5 л СЗП завершили карантинное хранение, из них:

- прокарантинизовано — 1279 л СЗП (81,5 % от СЗП, завершившей карантинное хранение),
- патогенинактивировано — 80,9 л СЗП (5,2 % от СЗП, завершившей карантин-

ное хранение),

- забраковано — 210,6 л СЗП (13,3 % от СЗП, завершившей карантинное хранение).

Причины брака СЗП завершившей карантинное хранение:

- 2,1 л — ГТИ (гемотрансмиссивные инфекции) — 1 % от забракованной СЗП, завершившей карантинное хранение,
- 7,8 л — АЛТ — 3,7 % от забракованной СЗП, завершившей карантинное хранение,
- 48,3 л — нарушение герметичности — 22,9 % от забракованной СЗП, завершившей карантинное хранение,
- 140,2 л — неявка донора — 66,6 % от забракованной СЗП, завершившей карантинное хранение,
- 12,2 л — другие причины — 5,8 % от забракованной СЗП, завершившей карантинное хранение,

Брак, связанный с недостатками используемой информационной системы (ЕДЦ ГСПК):

- АЛТ — 7,8 л СЗП,
- 20 % брака по неявке донора — 28 л СЗП — всего 35,8 л СЗП (17 % от всего брака СЗП, завершившей карантинное хранение).

Абсолютные потери СЗП — 51,0 л — 24,2 % от СЗП, завершившей карантинное хранение:

- ГТИ — HCV- 1.5 л, HBsAg — 0.3л, ВИЧ — 0,3 л

- Выявление антиэритроцитарных анти-тел — 0,6 л
- Нарушение герметичности пакета — 48,3 л

Выводы:

1. Брак, выявленный строго во исполнение приказа № 193, составил 0,1 % от всей плазмы, завершившей карантинное хранение, и 1 % от всего брака СЗП, прошедшей карантинное хранение.
2. Основные причины брака СЗП по завершении карантинного хранения: 22,9 % — нарушение герметичности пакета, 66,6 % — неявка донора.

3. Использование адекватной информационной системы (федеральной системы Трансфузиология) позволило бы сократить на 5,4 % брак плазмы, связанный с невозможностью направления крови доноров на исследование из-за наличия в ЕДЦ ГСПК противопоказания к донорству.
4. Использование федеральной системы Трансфузиология позволило бы также проводить карантинизацию плазмы по информации о донациях доноров за пределами городских учреждений службы крови СПб.

Суборова Т. Н., Лаушкина О. И., Сидельникова О. П., Проценко А. Н., Криворучко А. Б.

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации», г. Санкт-Петербург

**РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К МЕРОПЕНЕМУ ШТАММОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ
ИЗ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА**

Введение. В ряде медицинских учреждений Санкт-Петербурга с возрастающей частотой регистрируются вспышки госпитальных инфекций, вызванных распространением грамотрицательных бактерий (ГОб), резистентных к меропенему вследствие продукции карбапенемаз, что определило необходимость проведения исследования в многопрофильном стационаре.

Цель. Оценить в динамике изменения спектра микроорганизмов, полученных из крови пациентов многопрофильного стационара, и определить частоту выделения штаммов, резистентных к меропенему вследствие продукции карбапенемаз.

Материалы и методы. Для исследования крови использовали автоматический анализатор Vact/ALERT (bioMerieux, Франция). Идентификацию выделенных культур проводили с помощью анализатора Vitek-2 (bioMerieux, Франция), чувствительность к меропенему определяли диско-диффузионным методом. Результаты оценивали на основании критериев интерпретации, представленных в отечественных рекомендациях 2015 года. К нечувствительным относили штаммы, не соответствующие критериям «чувствительный», с учетом видовых различий. Выявление ГОб, продуцирующих карбапенемазы, проводили с помощью фенотипи-

ческого метода инактивации карбапенемов (Carbapenem Inactivation Method, CIM) (Kim van der Zwaluw e. a., 2015) и методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени (АмплиСенс, Россия).

Результаты. При исследовании образцов крови пациентов многопрофильного стационара в 2010 г. было выделено 355 штаммов, в 2015 г. — 234 штамма. При этом в 2015 г. доля ГОб (n=90) составила 38,5 % и была на 15 % выше аналогичного показателя 2010 года. Выявлено двукратное повышение доли *K. pneumoniae* (с 8,5 % до 15 %), *A. baumannii* (с 4,8 % до 10,3 %), *E. coli* (с 1,7 % до 5,1 %) и двукратное снижение доли *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Среди культур, полученных в 2015 г. из крови пациентов терапевтических отделений, преобладали грамположительные кокки: коагулазонегативные стафилококки (38,7 %), *S. aureus* (14,5 %) и *Enterococcus spp.* (11,3 %), тогда как у пациентов хирургических отделений лидировали коагулазонегативные стафилококки, *K. pneumoniae* и *A. baumannii* (27,9 %, 16,9 % и 13,4 %, соответственно). Доля меропенем-резистентных штаммов ГОб составила 32,2 %. Нечувствительными к меропенему были 3 из 18 изолятов (16,7 %), полученных из крови пациентов отделений терапевтического профиля, и 26 из 72 (36,1 %) — хирургическо-

го. Наиболее часто меропенем-резистентные штаммы обнаруживались среди *A.baumannii* (13 из 24 изолятов) и *K. pneumoniae* (11 из 35 изолятов). При молекулярно-генетическом исследовании 26 меропенем-резистентных штаммов (10 — *A.baumannii*, 10 — *K. pneumoniae* и 6 — *P.aeruginosa*) установлена продукция карбапенемаз у 13 из них. Выявлены штаммы *A.baumannii*, несущие гены карбапенемаз типа OXA-40 (6 случаев), *P.aeruginosa* (VIM, 2 случая), *K.pneumoniae* (4 случая NDM и 2 — OXA-48). У штаммов *A.baumannii* и *K.pneumoniae*, несущих гены карбапенемаз, была обнаружена также ферментативная активность в CIM тесте. В период проведения исследования отмечен случай генерализованного осложнения, связанного с *K.pneumoniae*, продуцирующей карбапенемазу типа NDM, что подчеркивает необходимость создания быстрого и надежного спосо-

ба диагностики этого вида резистентности.

Выводы. Установлено повышение в 2015 г. роли ГОБ в развитии бактериемии и широкое распространение в стационаре штаммов *A.baumannii* и *K. pneumoniae*, нечувствительных к меропенему вследствие продукции карбапенемаз. Для своевременной коррекции антибактериальной терапии и проведения адекватных противоэпидемических мероприятий требуется проведение широкой лабораторной апробации фенотипических тестов, позволяющих выявить ферментативный механизм устойчивости ГОБ к карбапенемам, с последующим внедрением в практику работы бактериологических лабораторий, не имеющих возможности оперативно проводить молекулярно-генетические исследования клинических изолятов со сниженной чувствительностью к карбапенемам.

Туполева Т. А., Абакаров Р. Р., Игнатова Е. Н., Романова Т. Ю., Тихомиров Д. С., Ярославцева Н. Г., Гуляева А. А., Овчинникова Е. Н., Гапонова Т. В., Савченко В. Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гематологический научный центр»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

СНИЖЕНИЕ ЧАСТОТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ МАРКЕРОВ У ДОНОРОВ: СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ ИЛИ СЕЛЕКЦИЯ?

Введение. Повышение инфекционной безопасности компонентов крови обусловлено комплексом мероприятий: постоянное улучшение чувствительности тестов для выявления инфекционных маркеров; совершенствование процедуры отбора доноров — с 1 марта 2015 в ФГБУ ГНЦ только безвозмездное донорство; проведение программы вакцинации населения против гепатита В — с 1998 года в календарь профилактических прививок включена вакцинация новорожденных, а с 2001 года — подростков 13 лет. Еще одним фактором является скрининг образцов крови доноров на наличие антител к ядерному антигену вируса гепатита В (анти-НВс), введенный в ФГБУ ГНЦ с марта 2014 года.

Цель исследования. Показать динамику выявления серологических инфекционных маркеров в образцах крови доноров за последние три года.

Материалы и методы. В период с 2014 года по первое полугодие 2016 года 31302 образца крови доноров было исследовано на на-

личие серологических маркеров. Были использованы скрининговые тест-системы: Джинскрин ультра ВИЧ Аг/Ат, Monolisa HBsAg Ultra, Monolisa HBsAg (с нейтрализацией) подтверждающий, Monolisa anti-HCV Plus, Monolisa anti-HBc Plus, РекомбиБест антипаллидум — суммарные антитела, Люис RPR тест, HBsAg Qual II, anti-HCV, Inno-LIA HCV Score Innogenetics и HBsAg Qualitative Confirmatory.

Доля доноров крови и ее компонентов в возрасте 18–28 лет составляла 47–48 %.

Результаты. Частота выявления антител к вирусу иммунодефицита человека в образцах крови доноров ФГБУ ГНЦ снизилась в 6 раз (с 0,3 % до 0,05 %), встречаемость HBsAg — в 2,5 раза (с 0,2 % до 0,08 %), антител к вирусу гепатита С — в 3,5 раза (с 0,5 % до 0,14 %). Доля положительных результатов серологических реакций при диагностике сифилиса сократилась в 2,5 раза (с 0,3 % до 0,12 %). Частота обнаружения анти-НВс уменьшилась в 6 раз (с 4,2 % до 0,68 %, $\chi^2=43,11$, $p < 0,001$).

Выводы. Встречаемость декретированных инфекционных маркеров в образцах крови доноров ФГБУ ГНЦ за анализируемый период снизилась в 2,5–6 раз. Статистически зна-

чительно сократилась доля образцов крови доноров, положительных по дополнительному маркеру — анти-НВс.

Щербак Н. Я.¹, Улюкин И. М.², Орлова Е. С.², Андреева Н. В.¹, Буланьков Ю. И.²

¹ Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина», г. Санкт-Петербург

² Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации», г. Санкт-Петербург

ПЕРЕНОСИМЫЕ ПРИМАТАМИ РЕТРОВИРУСЫ КАК ПРОБЛЕМА СЛУЖБЫ КРОВИ

Введение. Известно, что пути передачи в условиях мегаполиса и клинико-лабораторная диагностика заболеваний человека, вызванных ретровирусами обезьян, изучены недостаточно и могут представлять сложности для службы крови, хотя они имеют высокую медико-социальную значимость (обусловленную как особенностями контингента пораженных лиц, так и трудностями диагностики).

Целью настоящей работы являлся анализ возможных путей передачи обезьяньих ретровирусов человеку в условиях мегаполиса и особенности клинико-лабораторной диагностики вызываемых ими заболеваний.

Материалы и методы. Проанализирован отчет городского антирабического центра за 2013–2015 гг. и выполнен метанализ результатов научных исследований по проблеме обезьяньих ретровирусов у человека, размещенных в зарубежных и отечественных научных библиографических базах.

Результаты. В настоящее время был отмечен рост количества людей, укушенных (ослуженных, оцарапанных) именно обезьянами. Так, в 2014–2015 гг. количество людей, укушенных обезьянами, составило 45/81 человек соответственно, или 0,007%/0,012% от общего числа лиц, обратившихся в антирабический центр за медицинской помощью. Вероятно, что ситуация в целом по городу не отражена, так как пострадавшие могли не обратиться за медицинской помощью, либо могли обратиться по месту травмы за пределами города в другие медицинские государственные/коммерческие структуры, где подобный статистический анализ не предусмотрен.

Медицинская помощь пострадавшим была оказана антирабической службой города

в соответствии с положениями руководящих документов. Необходимо отметить, что в 2013 году от проведения иммунопрофилактики бешенства по тем или иным причинам отказалось под роспись 2911 человек, в 2014 г. — 2712 человек, в 2015 г. — 2209 пациентов. С другой стороны, необходимо подчеркнуть, что заболевания, вызываемые ретровирусами обезьян, не входят в анализ эпизоотической ситуации в мире, проводимый Россельхознадзором. Однако человеческие и ветеринарные вакцины бывают контаминированы обезьяньими вирусами (в том числе теми, на которые нет коммерческих лабораторных тестов), которые считаются безвредными или менее опасными, нежели аттенуированные живые вирусы в вакцинах [Comar M., et al., 2014], при том, что ряд наиболее изученных из них способен спровоцировать тяжелые заболевания у человека [Butel J. S., 2012].

Тем временем у обезьян отмечено развитие случая синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД), вызванного ВИЧ-1 (вирус иммунодефицита человека 1 типа, human immunodeficiency virus type 1). Так, во время адаптации в течение четырех пассажей у макака, этот вирус приобрел способность противодействовать фактору ограничения репликации тетерину (tetherin, антиген 2 стромы костного мозга), что постепенно позволило вирусу воспроизводиться в более высоких концентрациях, что, в конечном счете, вызвало истощение популяции CD4-лимфоцитов и развитие СПИД-индикаторных состояний; необходимо, правда, отметить, что в исследовании были задействованы специальные клоновые NL4-3-производные вирусов ВИЧ-1 [Hatzioannou T., et al., 2014]. Считается,

что подобные исследования могут содействовать выработке новых подходов, в частности, к разработке вакцины против ВИЧ. Ранее проведенными исследованиями в Западной Африке было установлено, что каждый подтип ВИЧ-2 (вирус иммунодефицита человека 2-го типа, human immunodeficiency virus type 2) возникал из широко расходящихся штаммов вируса SIVsm (группа вируса иммунодефицита обезьян, simian immunodeficiency viruses/SIV) [Chen Z., et al., 1997]. И вот — в настоящее время продемонстрировано, как один из штаммов вируса SIV (SIVsmm753) был лабораторно идентифицирован как новый вариант HIV-2 (HIV-2-071C-TNP03), и диагностирован в организме 8-летнего ребёнка [Ayoub A., et al., 2013].

Выводы. Эффективность лабораторной диагностики службой крови, в частности

ретровирусов обезьян у человека, зависит от корректного использования диагностических методов в лабораториях, должным образом оснащенных и укомплектованных персоналом, работающим в рамках отлаженных систем качества [Улюкин И. М., и др., 2013]. Поэтому новые диагностические инструменты и технологии будут способствовать обеспечению заблаговременного предупреждения инфицирования человека обезьяньими ретровирусами, что может принести несомненную пользу общественному здравоохранению. Тем более что нельзя предугадать, как поведут себя эти вирусы, будучи перенесенными в генетически отличные этнические группы людей, которые к тому же проживают на территориях с иными внешними факторами и социальными условиями.

Федотовская Ю. И., Червякова М. А., Яковенко Т. И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

ПРОБЛЕМА CLOSTRIDIUM DIFFICILE АССОЦИИРОВАННОЙ ДИАРЕИ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (ПО ДАННЫМ ЛИТЕРАТУРЫ)

Введение. *Clostridium difficile* является одной из ведущих причин возникновения внутрибольничной диареи в развитых странах, приводя к значительным финансовым потерям. Например, в США в 2015 году затраты, связанные с данной инфекцией, составили в среднем 6,3 млрд. долларов, а общее количество дней пребывания больных в стационаре — около 2,4 млн. В последние годы наблюдается тенденция к увеличению заболеваемости *Clostridium difficile* ассоциированной диареей. Основными считаются такие общие факторы риска как антибиотикотерапия, пожилой возраст, состояние иммуносупрессии, хирургические вмешательства, длительное пребывание в стационаре. Данные факторы являются характерными для онкогематологических больных. Однако не до конца изучены факторы, связанные с самой трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток.

Цель. Выявить специфические факторы риска развития *Clostridium difficile* ассоциированной диареи у пациентов, перенесших

трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, связанные с трансплантацией.

Материалы и методы. Анализ электронной базы данных PUBMED с 2000 по 2016 годы и статей, опубликованных в российских журналах.

Результаты. Частота возникновения клостридиальных энтероколитов у пациентов с онкологическими и гематологическими заболеваниями варьирует от 1,3 до 21,4 % (Киргизов К. И. и др., 2014). В 2011 году ученые из Южной Кореи (Gweon TG, Choi MG, Baeg MK et al., 2011) установили, что частота инфекций, вызванных *Clostridium difficile* (КДИ), у пациентов с гематологическими заболеваниями в 6,8 раз выше, чем у пациентов с негематологическими заболеваниями. Рецидивы чаще отмечались у гематологических больных по сравнению с негематологическими (18,8 % против 8,5 %, $p < 0,01$), что было связано с более высокой частотой использования антибиотиков, способствующих развитию *Clostridium difficile* ассоциированной диареи. Показатели смерт-

ности между этими двумя группами не отличались. По данным Carolyn D. Alonso et al., 2013, пациенты, перенесшие трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), представляют наиболее уязвимую группу, подверженную специфическим факторам риска: тип трансплантата, режим кондиционирования и реакция трансплантат против хозяина (РТПХ). В своих более ранних исследованиях авторы показали, что общая частота КДИ составила 6,5 % у пациентов с аутологичной ТГСК и 12,5 % с аллогенной; а также наличие прямой связи между КДИ и последующим развитием РТПХ. В статье Willems L. указаны такие факторы риска, как общее облучение тела в режиме кондиционирования, использование пуповинной крови в качестве источника стволовых клеток и РТПХ (Willems et al., 2012). Melissa A. Kinnebrew и соавторы в ходе исследования выявили прямую зависимость между возникновением КДИ и интенсивностью химиотерапии у пациентов с аллогенной ТГСК и не выявили связи между КДИ и РТПХ (Kinnebrew et al., 2014). По данным, представленным в статье Guddati A. K., ТГСК и РТПХ ука-

заны как независимые факторы риска КДИ, не влияющие на смертность (Guddati A. K. et al., 2014). Kamboj M и соавторы выявили более высокий риск развития КДИ у пациентов с аллогенной ТГСК, и не установили взаимосвязи между КДИ и последующим развитием РТПХ (Kamboj M. Et al., 2014). Исследование, проведенное Pilcante J. в 2015 в чилийских больницах, показало, что у пациентов с аллогенной ТГСК риск развития КДИ был в три раза выше, чем у пациентов с аутологичной, но это не влияло на уровень смертности и риск развития РТПХ (Pilcante J. et al. 2015).

Выводы. Специфическими факторами риска КДИ для пациентов с ТГСК являются режим кондиционирования, тип трансплантата и РТПХ. Однако между авторами нет единого мнения относительно взаимосвязи между КДИ и РТПХ. Этот вопрос требует дальнейшего изучения. В большинстве исследований отмечено, что заболеваемость КДИ выше у пациентов, перенесших аллогенную трансплантацию, по сравнению с пациентами, перенесшими аутологичную.

**Хамитова И. В.¹, Антипова А. Ю.¹, Лаврентьева И. Н.¹, Семенов А. В.¹,
Буркитбаев Ж. К.², Савчук Т. В.²**

¹ Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Санкт-Петербург

² Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного владения «Научно-производственный центр трансфузиологии» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, г. Астана, Республика Казахстан

СКРИНИНГОВОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ДОНОРОВ КАЗАХСТАНА НА МАРКЕРЫ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ.

Введение. Парвовирусная инфекция (ПВИ) широко распространена, что подтверждается высокой выявляемостью IgG-антител к парвовирусу В19 в сыворотках крови разных групп населения на разных территориях. Так IgG антитела к возбудителю ПВИ выявляются в группах обследованных детей в возрасте от 2 до 5 лет до 21 % случаев, в возрастной группе 5–19 лет — в 15–60 %, у взрослых до 50 лет — в 30–60 % случаев, старше 50 лет — более 80 %.

ПВИ передается воздушно-капельным путем, трансплацентарно, при пересадке органов и тканей, гемотрансфузионно с донорской кровью и препаратами крови.

На сегодняшний день очевидное значение парвовирусная инфекция имеет в трансфузиологии. В связи с тем, что парвовирус В19 (PV В19) не входит в список обязательных к тестированию инфекций и устойчив к применяемым методам обеззараживания препаратов крови, компоненты крови для трансфузии могут содержать ДНК PV В19. В многочисленных исследованиях обращается внимание на необходимость тестирования донорской крови на ПВИ, так как риск заражения значительно повышается уже при вирусной нагрузке 10^4 копий/мл и выше.

Цель исследования. Оценить частоту встречаемости лабораторных маркеров ПВИ

в образцах плазмы доноров центра трансфузиологии г. Астана.

Материалы и методы. Исследована плазма крови 480 доноров (126 женщин и 354 мужчин в возрасте от 18 до 59 лет). Образцы плазмы крови получены из «Научно-производственного центра трансфузиологии», г. Астана. Определяли два маркера парвовирусной инфекции: IgG-антитела к PV B19 и ДНК PV B19. Наличие IgG-антител определяли методом ИФА диагностическим набором «Anti-ParvovirusB19ELISA(IgG)» (EUROIMMUN, Германия) в количественном варианте. В дальнейшем в серопозитивных образцах плазмы выявляли ДНК PV B19 методом ПЦР с помощью наборов реагентов Амплипрайм «РИБО-преп» и «АмплиСенс®Parvovirus B19-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия).

Результаты. Всего антитела IgG к PV B19 были обнаружены в 313 (65,2 %) образцах, у 67 женщин (53,2 %) и 246 мужчин (69,5 %). Наибольшее количество серопозитивных, составляющих 84,2 % и 80 %, было выявлено в возрастной группе 42–49 лет у женщин и мужчин, соответственно. В возрастной группе 18–25 лет, как у мужчин, так и у женщин доля серопозитивных проб оказалась наименьшей и составила 60,7 % и 35,7 %, со-

ответственно. Обращает на себя внимание факт, что в данной возрастной группе у женщин антитела IgG к PV B19 выявлялись в 1,8 раз реже, чем среди мужчин. Этот показатель практически выравнивается, начиная с возрастных групп 34 года и старше (73,3 % у женщин, 72,1 % у мужчин).

В образцах плазмы (N=313) серопозитивных образцов ДНК PV B19 была выявлена в 26,5 % случаев (17,3 % от общего числа исследованной плазмы). Содержание ДНК в большей части образцов (24,9 %) не превышало $8,6 \times 10^3$ копий/мл. Однако в 5 пробах (1,6 %) в возрастной группе 18–26 лет обнаружена ДНК PV B19 в концентрации от $1,3 \times 10^4$ до $4,0 \times 10^4$ копий/мл. В данных пробах были также выявлены высокие значения антител IgG к PV B19: от 73,8 до 98,5 МЕ/мл.

Выводы. Ранее нами было показано, что среди доноров Санкт-Петербурга IgG-АТ к PV B19 выявляются в 85,4 % случаев, и среди серопозитивных доноров частота выявления ДНК PV B19 составила 25 %, что сравнимо с полученными в этом исследовании результатами. Следует отметить, что вирусная нагрузка (ДНК PV B19) образцов доноров из Казахстана существенно ниже, чем у доноров из Санкт-Петербурга.

Целоусова О. М., Поздеев Н. М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ СЕПТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ У ДЕТЕЙ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Введение. Современная программная высокодозная полихимиотерапия является общепризнанным методом лечения онкогематологической патологии у детей, благодаря которому в 70–98 % случаев удается обеспечить полное выздоровление пациентов. Однако реализация протоколов химиотерапии у 25–48 % пациентов сопровождается развитием инфекционных осложнений, среди которых наиболее жизнеугрожающим счита-

ется сепсис с развитием полиорганной недостаточности.

Цель. Провести анализ результатов применения Пентаглобина у пациентов с онкогематологической патологией, осложненной миелотоксической нейтропенией и септическим состоянием.

Материалы и методы. В детском отделении гематологии и химиотерапии ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России в течение 2016 года

на программной полихимиотерапии находилось 32 пациента с онкогематологическими заболеваниями, у 12 из которых лечение осложнилось развитием миелотоксического агранулоцитоза с фебрильной нейтропенией. Средний возраст наблюдаемых составил 5 лет (от 1 года до 17 лет), мальчиков было 3, девочек 9. По диагнозам дети распределились следующим образом: острый лимфобластный лейкоз — 7, острый миелобластный лейкоз — 3, неходжкинская лимфома Т-клеточный вариант — 1, лимфома Ходжкина — 1. Все пациенты получали полихимиотерапию в соответствии с международными протоколами и национальными рекомендациями. При появлении признаков септического состояния и отсутствии эффекта от комплексной антибиотико- и противогрибковой терапии всем больным назначались инфузии Пентаглобина (обогащенного внутривенного иммуноглобулина, содержащего антитела классов IgG — 76 %, IgA — 12 %, IgM — 2 %).

Результаты. Клиническое течение заболевания на фоне проводимой высокодозной полихимиотерапии у всех наблюдаемых сопровождалось лихорадкой выше 38 °С. При этом у 4 пациентов были выявлены очаги инфекции: стоматит у двух, бронхопневмония у одного, явления колита у одного. У всех пациентов в анализах крови определялась миелотоксическая нейтропения (абсолютное содержание гранулоцитов в среднем $0,047 \times 10^9/\text{л}$ (интервал от 0 до 0,3). Биохимические показатели инфекционного процесса: средний уровень фибриногена достигал 5,6 г/л, средний уровень прокальцитонина — 1,8 нг/мл, медиана С-реактивного белка составила 10,05 (интервал от 0,02 до 38,82). Исходный уровень IgG в сыворотке крови в среднем составил 5,26 г/л (интервал от 2,76 до 6,27), IgA — 0,2 г/л (интервал от 0,08 до 0,8), IgM — 0,3 г/л (интервал от 0,11 до 1,09). На высоте лихорадки у двух пациентов из крови высеялась грамположительная флора (*Enterococcus faecalis*), у двух — грамотрицательная

(*Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumonia*), из кала — *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*.

Всем пациентам проводилась комплексная эмпирическая антимикробная и противогрибковая терапия, назначавшаяся с учетом чувствительности высеваемой флоры. У всех детей, несмотря на проводимую терапию в течение 5 дней, сохранялась лихорадка и отсутствие положительной клинической динамики. Это явилось показанием для назначения Пентаглобина. Инфузия Пентаглобина осуществлялась внутривенно в дозе 5 мл на кг массы тела ежедневно всем пациентам в течение трех дней. После завершения инфузий Пентаглобина по указанной схеме, несмотря на сохранение агранулоцитоза в анализе крови, во всех случаях отмечена положительная динамика клинического статуса: нормализация температуры тела, купирование инфекционных проявлений. Проведена оценка уровня иммуноглобулинов после окончания курса Пентаглобина: уровень IgG составил в среднем 13,89 г/л (интервал от 9,47 до 17,7), IgA — 1,77 г/л (интервал от 0,48 до 3,5), IgM — 1,52 г/л (интервал от 0,3 до 2,3). Сравнительный анализ показателей иммуноглобулинов в динамике свидетельствует о статистически достоверном увеличении уровней всех иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) благодаря инфузиям Пентаглобина.

Выводы. Пентаглобин является высокоэффективным средством выбора у пациентов с онкогематологической патологией в стадии миелотоксической нейтропении, сопровождающейся септическими проявлениями. Показанием к назначению Пентаглобина служит отсутствие клинического ответа на комплексную антимикробную терапию в течение 5 дней. Ежедневные инфузии Пентаглобина в течение трех дней в дозе 5 мл на кг массы тела ведут к нормализации уровня иммуноглобулинов и купированию септического состояния.

**Чечеткин А. В., Данильченко В. В., Макеев А. Б.,
Григорьян М. Ш., Солдатенков В. Е., Киселева Е. А.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ОБЕСПЕЧЕНИЕ ВИРУСНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ДОНОРСКОЙ КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ

Введение. Предупреждение передачи вирусных инфекций с донорской кровью и ее компонентами является актуальной задачей службы крови. Для этого применяется комплекс организационных, технологических и медицинских мероприятий. Основой стратегии обеспечения вирусной безопасности донорской крови и ее компонентов является неукоснительное выполнение нормативно-правовых и методических документов, регламентирующих вопросы отбора доноров, обследования донорской крови, использование методов карантинизации, патогенинактивации и лейкоредукции.

Цель исследования. Исследовать вопросы обеспечения вирусной безопасности донорской крови и ее компонентов в учреждениях службы крови.

Материалы и методы. Проведен анализ значений статистических и расчетных показателей, изложенных в отраслевых статистических наблюдениях по работе станций переливания крови (СПК), отделений переливания крови (ОПК) в 2007–2015 гг. Аналитические данные представлены, исходя из административного деления Российской Федерации на федеральные округа (ФО).

Результаты. Установлено, что в течение 2007–2015 годов доля безвозмездных доноров в структуре доноров в учреждениях службы крови увеличилась с 89,6 % до 97,5 %. В 2015 году имелись некоторые различия в степени развития безвозмездного донорства в различных регионах Российской Федерации. Количество безвозмездных доноров в учреждениях службы крови в Сибирском, Северо-Кавказском, Крымском и Южном федеральных округах достигало более 98 %. Менее интенсивно развивалось безвозмездное донорство крови и ее компонентов в Уральском и Дальневосточном ФО. За последние годы доля донаций от безвозмездных доноров увеличилась почти на 9 % и достигла 98,1 %. Наиболее высокая доля донаций от безвозмездных доноров крови отмечена в учреждениях службы крови в Южном, Се-

веро-Кавказском и Сибирском ФО. При этом наиболее выраженный рост этого показателя приходился на 2013–2014 годы. Если донации крови только от безвозмездных доноров осуществляли в 2014 году 19, то в 2015 году — 26 субъектов Российской Федерации. Подобная динамика является позитивной, так как безвозмездное донорство является одним из основных элементов получения вирусбезопасной донорской крови и ее компонентов.

Продолжается эффективное использование методов обеспечения вирусной безопасности плазмы, прежде всего ее карантинизации. Количество карантинизированной плазмы, выпускаемой службой крови России, за 2007–2015 годы выросло в 1,8 раз, и в 2015 году было произведено более 589 тыс. л карантинизированной плазмы.

За исследуемый период доля лейкофильтрованных эритроцитных компонентов увеличилась в 1,9 раз и достигла 32,8 % в 2015 году. В наибольшей степени внедрены эти технологии в учреждениях службы крови Сибирского и Северо-Западного федеральных округов. Отмечен рост заготовки лейкофильтрованной плазмы крови. Наиболее эффективно этот метод используется в учреждениях службы крови Уральского и Сибирского федеральных округов. В частности, по итогам 2015 года в Уральском федеральном округе более 63 % донорской плазмы подвергалось лейкоредукции. Доля лейкоредуцированного тромбоцитного концентрата увеличилась в 5 раз. Наиболее активно лейкоредукция используется при заготовке тромбоцитного концентрата в учреждениях службы крови Центрального и Уральского федеральных округов.

Дополнительным методом обеспечения вирусной безопасности плазмы и тромбоцитного концентрата является патогенинактивация. За 2011–2015 гг. доля патогенинированного тромбоцитного концентрата увеличилась более чем в 8 раз (с 2,1 % до 17,1 %). Наиболее активно эта технология повышения инфекционной безопасности использу-

ется в учреждениях службы крови Северо-Западного и Приволжского ФО. За этот же период времени объем патогенинактивированной плазмы в службе крови России увеличился в 2,3 раз. Наиболее активно патогенинактивация плазмы применяется в учреждениях службы крови Северо-Кавказского, Южного и Северо-Западного ФО.

Выводы. В учреждениях службы крови России используются новые технологии, обеспечивающие высокий уровень вирусной безопасности донорской крови и ее компонентов.

Шапошникова И. В., Крылова Т. В.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Пензенский областной клинический центр крови», г. Пенза

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

Введение. Одной из мер обеспечения инфекционной и иммунологической безопасности компонентов донорской крови является удаление лейкоцитов (лейкоредукция, лейкодеплеция) из гемотрансфузионных сред.

Цель. Провести анализ динамики получения лейкофильтрованных компонентов крови.

Материалы и методы. Проанализированы материалы отчетов по заготовке донорской крови и ее компонентов в Пензенском областном клиническом центре крови («ПОКЦК») за период с 2013 по 2015 год.

Результаты. В практике «ПОКЦК» с 2007 года используется технология лейкоредукции эритроцитной массы и плазмы с применением «Устройства для удаления лейкоцитов «Лейкосепт» сразу же после разделения цельной крови на компоненты, а с января 2014 года — метод лейкофльтрации консервированной донорской крови с использованием контейнеров со встроенным лейкофильтром Seracell, с последующим центрифугированием уже лейкофильтрованной консервированной крови и разделением ее на компоненты (эритроцитную массу и плаз-

му). Удаление лейкоцитов из концентрата тромбоцитов осуществляется через фильтры, встроенные в расходный комплект для проведения автоматического тромбоцитафереза на сепараторе MSC+ Hemonetics. Применение HS (высокосепарированного) колокола в аппарате PSC2 Hemonetics позволяет получить высокоочищенную от лейкоцитов плазму. Данный метод применяется в «ПОКЦК» с 2006 года.

В структуре общей заготовки компонентов крови в 2015 году доля лейкоредуцированных эритроцитосодержащих компонентов крови составила 25,5 %, свежезамороженной плазмы лейкоредуцированной — 40,8 %, концентрата тромбоцитов лейкофильтрованного — 99,8 %.

Выводы. Внедрение и использование в заготовке компонентов донорской крови современного оборудования и технологий позволяет повысить уровень безопасности выпускаемой продукции, тем самым способствуя, профилактике инфекционных и иммунологических осложнений при проведении гемотрансфузий.

Шардаков В. И., Демьянова В. Т., Йовдий А. В., Назарова Е. Л., Зотина Е. Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У БОЛЬНЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Введение Хронические лимфопролиферативные заболевания (ХЛПЗ) доминируют по своей частоте среди хронических гемобластозов. Вовлечение в опухолевый процесс клеток лимфатической системы таит в себе значительный риск возникновения у пациентов с данной онкогематологической патологией инфекционных осложнений. По данным литературы, это связано с несколькими причинами. Во-первых, наблюдается вытеснение опухолевыми клетками клеточных элементов нормальной лимфоидной популяции. Во-вторых, опухолевый клон хотя и представлен морфологически зрелыми, но функционально малоактивными В-лимфоцитами, способными в большинстве случаев к дифференцировке в плазматические клетки и, следовательно, к реализации полноценного иммунного ответа. В третьих, злокачественные лимфоциты, наряду с другими мононуклеарами, способны вырабатывать ряд иммуносупрессивных факторов, подавляющих нормальную функцию иммунной системы и способствующих прогрессированию опухолевого роста. Совокупность этих факторов приводит к развитию вторичной иммунной недостаточности и возникновению у больных ХЛПЗ инфекционной патологии. Наблюдается увеличение числа случаев у таких пациентов вирусных осложнений, в частности, реактивации прежде всего латентных вирусных инфекций семейства *Herpesviridae*, а также возможное обострение хронических вирусных гепатитов В и С. К сожалению, механизмы формирования иммунной недостаточности у больных ХЛПЗ и факторы, предрасполагающие к реактивации у них вирусных инфекций, в настоящее время остаются до конца не изученными. Совершенно не раскрыта роль регуляторов иммунитета — цитокинов — при этой патологии.

Цель исследования — оценка состояния звеньев иммунитета и установление ключевых факторов реактивации вирусных инфекций у больных ХЛПЗ.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 85 больных ХЛПЗ, среди которых у 80 диагностированы хронический лимфолейкоз/лимфома из малых лимфоцитов, а у 5 пациентов выявлены крупноклеточная неходжкинская лимфома или лимфома из клеток мантии.

У наблюдаемых больных проведены иммунологические исследования, которые включали оценку клеточного, гуморального и врожденного звеньев иммунитета по общепринятым методикам. В сыворотке крови пациентов ИФА-методом определяли уровни ряда цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИФН- α , ИФН- γ).

У 64 пациентов ХЛПЗ с использованием ПЦР-анализа проводилось тестирование маркеров герпесвирусных инфекций (ДНК HSV, CMV, EBV), а также вируса гепатита В (ДНК HBV) и вируса гепатита С (РНК HCV).

Группу сравнения составили 50 практически здоровых жителей Кировской области — доноров крови и ее компонентов, сопоставимых с больными по возрасту.

Результаты исследования. При оценке состояния иммунореактивности у наблюдаемых больных прежде всего было обращено внимание на состояние клеточного иммунитета, а также содержание CD16⁺ клеток, которые составляют основу противовирусной резистентности. Выявлено, что количественные показатели клеточного иммунитета, а также число NK-клеток, у больных с опухолями лимфатической системы оказались достоверно ниже аналогичных показателей группы сравнения. Так, относительное содержание CD3⁺ и CD4⁺ лимфоцитов у пациентов составило $43,8 \pm 1,10\%$ и $24,5 \pm 0,88\%$ (в группе контроля: $64,5 \pm 1,77\%$ и $38,2 \pm 2,84\%$ соответственно; $p < 0,01$). Число CD16⁺ клеток у больных не превышало $18,8 \pm 1,16\%$ (у здоровых людей — $24,4 \pm 3,26\%$; $p < 0,01$).

У пациентов проведен анализ состояния гуморального иммунитета. Необходимо отметить, что относительное и абсолютное со-

держание В-лимфоцитов у больных ХЛПЗ, как правило, было выше показателей группы сравнения, поскольку лейкозные клетки несли иммунологические маркеры нормальных зрелых В-лимфоцитов, и, как результат, суммарный пул В-клеток был повышен. Содержание иммуноглобулинов у пациентов (за исключением снижения уровня IgM) статистически значимых отличий от показателей группы сравнения не имело.

Оценивая полученные результаты уровней цитокинов, мы установили, что спонтанная продукция некоторых из них оказалась у пациентов сниженной. В частности, выявлено снижение концентрации ФНО- α (у больных — $270,2 \pm 37,66$ пкг/мл, а в группе контроля — $495,5 \pm 17,67$ пкг/мл; $p < 0,05$), а также уровня ИФН- γ ($24,1 \pm 6,50$ пкг/мл и $948,0 \pm 319,03$ пкг/мл соответственно; $p < 0,001$). Прослеживалась тенденция более низкого содержания у пациентов ИФА- α ($13,5 \pm 1,23$ пкг/мл против $18,8 \pm 0,21$ пкг/мл у здоровых людей). Эти данные свидетельствуют о формировании у больных вторичной иммунной недостаточности уже на уровне регуляторного звена.

За два последних года (2014–2015 гг.) проанализирована частота встречаемости маркеров вирусных инфекций у 64 больных ХЛПЗ с использованием ПЦР-анализа. Так, CMV выявлялся у 10,9 % пациентов, HSV1/2 — у 4,7 % обследованных, HBV и HCV — у 3,1 % больных. Ни у одного из пациентов не выявлено маркеров EBV. Необходимо отметить, что более частое выявление молекулярных маркеров герпесвирусов (цитомегаловируса и вируса простого герпеса) согласуется с данными других авторов. Реактивация этих вирусов на фоне

проводимой химиотерапии может влиять на течение и исход заболевания, а в некоторых случаях требует отмены противоопухолевой терапии и проведения интенсивного лечения с использованием дополнительных медикаментозных средств.

Следовательно, обобщая результаты проведенных исследований, можно заключить, что в основе ослабления противовирусного иммунитета у больных ХЛПЗ лежат комбинированные нарушения, затрагивающие прежде всего специфические звенья иммунной защиты (дефект Т-клеточного иммунитета, значительные отклонения в цитокиновом статусе, снижение процентного содержания естественных киллерных клеток). В опубликованных нами ранее работах показано, что дальнейшее прогрессирование опухолевого процесса и переход его в терминальную стадию способствуют ещё большему угнетению иммунореактивности пациентов и росту числа инфекционных осложнений.

Выводы:

1. У больных ХЛПЗ в основе формирования вторичной иммунной недостаточности лежит совокупность факторов, затрагивающих снижение количественных показателей Т-звена иммунитета, относительного содержания НК-клеток, а также ослабление цитокинсекретирующей функции иммунокомпетентных клеток и снижение продукции некоторых иммуноглобулинов.
2. Выраженная иммуносупрессия с ослаблением противовирусного иммунитета повышает риск реактивации, прежде всего, герпесвирусных инфекций.

Ярославцева Н. Г., Тихомиров Д. С., Романова Т. Ю., Игнатова Е. Н., Туполева Т. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА HHV 6 ИНФЕКЦИИ НА ФОНЕ ИММУНОСУПРЕССИИ

Введение. Описано несколько типов HHV 6 инфекции: первичная, латентная (без ремиссии) и активная инфекция вследствие реактивации. Различают две формы латентной инфекции HHV 6. Первая — персистенция вируса в эписомальном виде, когда геном вируса находится в ядре инфицированной

клетки в виде кольцевой ковалентно-замкнутой молекулы ДНК. Второй, более редкий тип латентной инфекции — интегрирование вирусного генома в теломеры хромосом хозяина посредством рекомбинации с вирусными TTAGGG-повторами, расположенными на концевых участках генома. Вирусная ДНК

в этом случае в ядродержащих клетках обнаруживается в высокой концентрации порядка 1–3 генома на клетку (или более 10^6 – 10^7 копий/ 10^6 клеток). При активной HHV 6-инфекции вирусная нагрузка колеблется в пределах 10^4 – 10^5 копий/ 10^6 клеток, что может быть ошибочно расценено, как интегративная форма инфекции.

Так, при выявлении высокой концентрации ДНК HHV 6 в цельной крови, всегда возникает вопрос о дифференциации между активной репликацией и интеграцией. Выявление ДНК HHV 6 в плазме крови может указывать на лизис зараженных клеток, что свидетельствует об активной инфекции, хотя не исключена возможность наличия некоторого количества ДНК из-за разрушения клеток, содержащих вирусные эписомы в процессе их обработки или спонтанного лизиса. Нарастание титра иммуноглобулинов не всегда указывает на реактивацию, возможно выявление перекрестно реагирующих антител к другим герпесвирусам, особенно к HHV 7.

Цель. Определить типы HHV 6 инфекции (латентная, активная, интегрированная?) у больных на фоне иммуносупрессии.

Материалы и методы. В плазме крови 98 пациентов ГНЦ с гемобластозами и апластической анемией, в лейкоцитах периферической крови (ЛПК) которых была обнаружена ДНК HHV 6, определяли концентрацию ДНК HHV 6 и наличие анти-HHV 6 IgG. Все пациенты находились на разных стадиях лечения основного заболевания, но в состоянии иммуносупрессии. Измерение концентрации ДНК проводили в лейкоцитах, выделенных из периферической крови, и в плазме крови. Вирусную нагрузку выражали в копиях геном-эквивалент на 10^5 ядродержащих клеток (коп/ 10^5 кл) или на 1 мл плазмы (коп/мл) соответственно. Были использованы наборы реагентов отечественного производства.

Результаты. У большей части больных, включенных в исследование (67,3 %, 66

из 98), ДНК HHV 6 была обнаружена только в ЛПК, но не в плазме крови. Концентрация вирусной ДНК в этих образцах находилась на пределе чувствительности теста (менее 500 коп/ 10^5 кл). Данное сочетание с высокой степенью вероятности указывало на латентную эписомальную форму HHV 6-инфекции. В образцах, где ДНК HHV 6 была обнаружена так же и в плазме крови, концентрация вирусной ДНК варьировала в широком диапазоне как в клетках, так и в плазме (в ЛПК от менее 500 до $1,7 \times 10^5$ коп/ 10^5 кл и в плазме — от менее 500 до $1,3 \times 10^5$ коп/мл). При этом в большей части этих образцов (62,5 %, 20 из 32) концентрация в плазме находилась в области высоких значений (от $1,1 \times 10^3$ до $1,3 \times 10^5$ коп/мл). Таким образом, обнаружение в плазме крови ДНК HHV 6 косвенно указывало на наличие активно реплицирующегося вируса.

У двух больных была зафиксирована высокая виремия ($1,5 \times 10^5/10^5$ кл и $1,7 \times 10^5/10^5$ кл соответственно), что позволило заподозрить у них интегративную форму инфекции. Однако данное предположение не было подтверждено, поскольку в последующих образцах от этих больных зафиксировано уменьшение концентрации вируса в ЛПК до менее 500 коп/ 10^5 кл, что невозможно в случае интеграции. Антитела к HHV 6 класса IgG были выявлены у 84,8 % (56 из 66) больных с персистентной и у 78,1 % (25 из 32) — с активной инфекцией HHV 6.

Выводы. Выявление в плазме крови ДНК HHV 6 в любой концентрации косвенно указывает на наличие активно реплицирующегося вируса, в то время как детекция вирусного генома только в клетках крови с высокой степенью вероятности указывает на латентную эписомальную форму HHV 6-инфекции. У больных, включенных в исследование, на фоне иммуносупрессии активная форма HHV 6-инфекции выявлена в 32,7 % случаев. Интегрированную форму HHV 6-инфекции обнаружить не удалось.

Бурылев В. В., Киселева Е. Е., Чеботкевич В. Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЧИПОВ ПРИ СКРИНИНГЕ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

Введение. Обеспечение инфекционной безопасности гемотрансфузий является одной из главных задач Службы крови. Сложность данной проблемы связана с большим числом возможных возбудителей гемотрансмиссивных инфекций и ограниченным набором тестируемых агентов при скрининге донорской крови. В настоящее время в Российской Федерации декретировано исследование на вирусы гепатитов В и С, ВИЧ и возбудитель сифилиса. В тоже время известно более 30 патогенов, передаваемых с донорской кровью, и их число продолжает расти. Для решения этой проблемы рассматривается возможность применения мультиплексных методов, в частности, с использованием биочипов.

Целью работы явилось изучение возможности и перспектив применения технологии биочипов для выявления и идентификации вирусных и бактериальных патогенов в донорской крови и плазме.

Материалы и методы. Анализ собственных и литературных данных по изучаемому вопросу.

Результаты и обсуждение. Нами был предложен олигонуклеотидный биочип для выявления восьми вирусов группы герпеса, определяемых у человека, в рамках работы

по контролю этой группы вирусов у доноров крови и у онкогематологических больных. Показана принципиальная возможность использования этой технологии для обеспечения герпесвирусной безопасности гемотрансфузий. Анализ литературы показал, что данный подход активно обсуждается, так как он дает возможность не только определять широкий круг патогенов, но и может быть использован в изосерологии для определения антигенов тромбоцитов, эритроцитов и других антигенов в крови. В настоящее время ПЦР-основанные биочипы получили большое развитие. Так, разработан биочип для мультиплексного определения и идентификации вирусов, бактерий и простейших в донорской крови и плазме, включающий 97 различных патогенов. Показана высокая чувствительность (100 копий/мл для бактерий и простейших и менее 100 копий/мл для вирусов) и специфичность разработанной платформы (Kourout M. et al. 2016).

Выводы. Таким образом, биочиповая технология является перспективным методом для контроля крови, позволяющим определять большое количество патогенов одновременно и обладающим высокой чувствительностью и специфичностью.

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абакаров Р. Р. 56
Аверьянова М. Ю. 37
Алексеева Е. А. 20
Андреев А. А. 10
Андреева Н. В. 57
Антипова А. Ю. 59
Аринова А. Ж. 27, 28
Афанасьев Б. В. 37
Афиногенова А. Г. 20
Афиногенов Г. Е. 21
Белозеров Е. С. 22
Бельгесов Н. В. 22, 30
Белякова В. В. 23
Беркос М. В. 50
Бессмельцев С. С. 24, 46
Билялова К. И. 27, 28
Бондаренко С. Н. 37
Боранбаева Р. З. 27, 28
Буланьков Ю. И. 57
Буркитбаев Ж. К. 59
Бурылев В. В. 46, 67
Варавкин О. Ю. 37
Васин А. В. 32
Васнева Ж. П. 29
Ващенко В. И. 30
Ветошкин К. А. 10
Вильянинов В. Н. 22, 30
Витюк Н. Г. 50
Волков А. В. 30
Волкова С. Д. 36
Воробьев Е. В. 32
Выдыборец С. В. 34
Высочин И. В. 32
Вяткина О. И. 33
Гайдукова С. Н. 34
Гапонова Т. В. 56
Голованова И. С. 36

Голощапов О. В.	37
Григорьян М. Ш.	62
Грицук А. И.	37
Гукасян И. А.	23, 56
Гуменова В. Н.	47
Данильченко В. В.	62
Дашкевич Э. В.	53
Демьянова В. Т.	64
Дешева Ю. А.	39
Донская О. В.	23
Евсеева Е. Е.	36
Егоренков Н. И.	37
Ермачкова М. Ю.	40
Ермоленко Д. К.	43
Ефимова Т. А.	50
Зорина Н. А.	40
Зорин В. А.	48
Зотина Е. Н.	64
Игнатова Е. Н.	56, 65
Игнатьев С. В.	40
Ильинских Е. Н.	41
Ильинских Н. Н.	41
Исаева Н. В.	10
Исаков В. А.	14, 43
Исаков Д. В.	14, 43
Йовдий А. В.	64
Кайтанджан Е. И.	46
Калеко С. П.	22
Калинина Е. Н.	10
Калинина С. Л.	40, 48
Карабак И. А.	44
Карев В. Е.	44
Карпенко Ф. Н.	49, 53
Касьянов А. Д.	36
Киселева Е. А.	50, 62
Киселева Е. В.	47
Киселева Е. Е.	45, 46, 67
Клементьева Р. В.	37
Клотченко С. А.	32
Князев М. Г.	10

Кобзева Е. Н.....	32
Коржель Т. С.	49, 53
Костяев А. А.	10
Криворучко А. Б.	55
Крылова Т. В.	63
Кудинова Е. В.....	47
Кузин А. А.	52
Кузнецов С. И.	47
Лаврентьева И. Н.	59
Лагунов В. А.....	48
Лаушкина О. И.....	55
Лянгузов А. В.	40, 48
Мадай Д. Ю.	21
Маевская О. Л.	49, 53
Майорова О. А.	23
Макаров М. С.	32
Макеев А. Б.	50, 62
Мартусевич А. К.	10
Матвеева Т. А.	50
Минаева Н. В.....	40, 48
Москалев А. В.....	51
Назарова Е. Л.	64
Никитина И. А.....	37
Никишов О. Н.	52
Новик А. В.....	33
Овчинникова Е. Н.....	56
Орлова Е. С.	57
Пешняк Ж. В.	53
Плотникова М. А.	32
Погорелая О. И.....	34
Поздеев Н. М.....	60
Полежаева Т. В.....	10
Попцов А. Л.	40
Потапнев М. П.....	49
Проценко А. Н.	55
Рагимов А. А.....	23
Рахманова А. А.....	27, 28
Реутова А. Г.	54
Романенко С. М.....	22
Романова Т. Ю.	56, 65

Рудой А. С.	51
Савченко В. Г.	56
Савчук Т. В.	59
Самарин А. Б.	48
Свистунов С. А.	52
Семенов А. В.	59
Сидельникова О. П.	55
Смирнова М. И.	20
Солдатенков В. Е.	62
Сошко С. В.	53
Стародубцева М. Н.	37
Стижак Н. П.	46
Суборова Т. Н.	55
Суслина О. В.	47
Темирбаева Ж. С.	27, 28
Тихменева И. Б.	30
Тихомиров Д. С.	56, 65
Туполева Т. А.	56, 65
Улюкин И. М.	57
Утёмов С. В.	10
Федотовская Ю. И.	58
Хамитова И. В.	59
Хейшхо Н. А.	50
Хоробрых Н. В.	40
Целоусова О. М.	60
Чеботкевич В. Н.	46, 67
Червякова М. А.	58
Чечеткин А. В.	36, 62
Шаланкевич А. И.	50
Шапошникова И. В.	63
Шардаков В. И.	64
Шерстнев Ф. С.	10
Шляга О. Л.	33
Щеглова И. В.	22
Щербак Н. Я.	57
Щербаков А. А.	37
Яковенко Т. И.	58
Ярославцева Н. Г.	56, 65

