

тест-системах «АмплиСенс HCV-FRT» и «АмплиСенс HCV-монитор-FRT». Его концентрация по РНК HCV оказалась равной $7,6 \cdot 10^4$ МЕ/мл. Следовательно, набором реагентов «АмплиСенс® HCV/HBV/HIV-FL» был обнаружен инфицированный ВГС образец донорской крови в периоде «серологического окна».

Таким образом, использование молекулярно-генетических методов позволяет выявить инфицированную кровь в тех случаях, когда иные методы оказываются неэффективными. Набор реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» удобен в работе, эффективно выявляет вирусы гепатитов В и С и вирус иммунодефицита человека как по отдельности, так и при микст-инфекции, характеризуется высокой чувствительностью и может быть рекомендован для тестирования мини-пулов донорской крови.

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ ПРИ ТЕСТИРОВАНИИ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ В СЛУЖБЕ ДОНОРСТВА

Коновалов А.С., Киреев Д.Е., Куевда Д.А.

ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Проблема безопасности препаратов донорской крови приобретает особую актуальность в России в связи с эпидемической ситуацией, сложившейся в отношении вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции. Использование серологических тестов для скринингового исследования препаратов крови позволило существенно снизить риск передачи вирусных инфекций при трансфузиях. Однако серологическое тестирование бесполезно в период отсутствия антител к вирусу, известного как «серологическое окно». Для повышения безопасности реципиентов необходимо проводить дополнительный скрининг донорской крови с использованием молекулярно-генетических методов позволяющих с высокой чувствительностью выявлять нуклеиновые кислоты вирусов и бактерий.

Однако невысокая пропускная способность данных тестов, а также относительно высокая стоимость таких исследований приводит к необходимости тестирования объединенных в один мини-пул нескольких образцов, что снижает чувствительность выявления вирусных инфекций. Для увеличения пропускной способности и чувствительности тестирования образцов донорской крови в ЦНИИЭ была разработана тест-система «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL». Данная тест-

система предназначена для одновременного выявления РНК вируса гепатита С, вируса иммунодефицита человека типа-1 и ДНК вируса гепатита В в одной пробирке методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. Для достижения максимальной чувствительности был разработан метод выделения нуклеиновых кислот из 1 мл плазмы с использованием магнитных частиц «МАГНО-сорб». Данный метод выделения может быть использован как в автоматическом режиме на станции Neon 100-1-8 (Xiril, Швейцария), так и в неавтоматизированном режиме без использования дорогостоящего оборудования. Кроме того разработан протокол совместимости набора реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» с автоматическими станциями пробоподготовки easyMAG (BioMerieux, Франция), QIASymphony (Qiagen, Германия), позволяющими выделять нуклеиновые кислоты из 1 мл плазмы.

Аналитическую чувствительность тест-системы определяли на международной панели стандартов NIBSC. По результатам проведенных испытаний чувствительность набора реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» не уступает лучшим зарубежным аналогам и составляет 10 МЕ/мл РНК HCV, 34 МЕ/мл РНК HIV и 5 МЕ/мл ДНК HBV при выделении нуклеиновых кислот из 1 мл плазмы, что дает возможность тестирования образцов донорской крови в формате мини-пулов. Возможна процедура автоматического пулирования с использованием станции Neon 100-1-8 (Xiril, Швейцария).

Аналитическую специфичность набора реагентов исследовали посредством добавления в реакцию нуклеиновых кислот следующих организмов и вирусов: вирус гепатита А, вирус гепатита D, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус простого герпеса типы 1, 2, вирус ветряной оспы, вирус герпеса человека типы 6, 8, парвовирус B19, вирус клещевого энцефалита, вирус лихорадки западного Нила, аденовирус типы 2, 3, 7, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae, Homo sapiens и др. Перекрестные реакции для указанных организмов и вирусов зарегистрированы не были.

Диагностическую специфичность оценивали на 80 образцах здоровых доноров давших отрицательных результат в референс тест-системах разрешенных к применению на территории РФ «Abbott RealTime HIV-1», «АмплиСенс HCV-FRT» и «АмпилСенс HBV-FRT». Положительных результатов с использованием набора реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» получено не было.

Таким образом, диагностическая специфичность выявления РНК HCV, РНК HIV и ДНК HBV набором реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» составила 100%.

Диагностическую чувствительность оценивали на группе из 139 образцах пациентов инфицированных HIV, HBV, HCV (как моно, так и микст-инфекции).

Из 123 исследуемых образцов 29 содержали только РНК HIV, 41 содержали только ДНК HBV, 34 только РНК HCV, 15 образцов содержали РНК HIV и РНК HCV, 1 образец содержал РНК HIV и ДНК HBV, 3 образца содержали РНК HCV и ДНК HBV. Дискордантных результатов с референс методами обнаружено не было. Таким образом, чувствительность исследуемого набора реагентов составила также 100%.

Таким образом, набор реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» адаптирован под широкий спектр оборудования, что позволяет использовать его как в составе полностью автоматической линейки с максимальной пропускной способностью и надёжностью, так и с ручными методами для минимальных затрат при небольших потоках. Набор реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» успешно прошел государственные испытания в ГИСК им. Л.А.Тарасевича, апробирован в ряде крупных станций переливания крови и центрах трансплантологии и может быть рекомендован к применению в службе крови.

Аналитическая чувствительность набора реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL»

Объём образца для выделения, мкл	Метод выделения	Аналитическая чувствительность, определенная на международной панели стандартов NIBSC		
		HCV, МЕ/мл	HBV, МЕ/мл	HIV, МЕ/мл
100	Ручное выделение с реагентами «РИБО-сорб» и «РИБО-преп»	100	50	340
200	Ручное выделение с реагентами «МАГНО-сорб»	50	25	170
1000	Ручное выделение с реагентами «МАГНО-сорб» Автоматические станции пробоподготовки	10	5	34