

СКРИНИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ НА МАРКЕРЫ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

А.Ю. Антипова¹, О.Н. Никишов², И.В. Хамитова¹, А.В. Семенов¹, М.А. Бичурина¹,
А.А. Кузин², И.Н. Лаврентьева¹

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБВОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Парвовирус В19 (PV В19) реплицируется преимущественно в клетках-предшественниках эритроцитов человека и передается воздушно-капельным, вертикальным путем и через кровь или инфицированные ткани. Парвовирусная инфекция имеет широкий спектр клинических проявлений. В группе риска находятся беременные женщины; люди с иммунодефицитными состояниями различной природы; лица, нуждающиеся в гемотрансфузиях или пересадке органов. Имеющиеся данные свидетельствуют о высоком риске заражения при переливании крови, содержащей ДНК парвовируса В19, в случае вирусной нагрузки 10^5 копий/мл и выше (Hourfar M.K. et al., 2011). Согласно требованиям отечественных нормативных документов, в производстве лечебных препаратов из плазмы крови предполагается использование сырья, свободного от вирусов или с минимальной вирусной нагрузкой (Филатова Е.В. и др., 2011). В ряде зарубежных стран исследование донорской крови на наличие ДНК PV В19 является обязательным; в нашей стране необходимость проведения такого скрининга обсуждается (Жибурт Е.Б. и др., 2013). В связи с тем, что парвовирус устойчив к применяемым методам обеззараживания препаратов крови, особенно важно оценивать качество донорской крови. Целью работы стало оценить частоту встречаемости двух маркеров парвовирусной инфекции (IgG-антитела и ДНК парвовируса В19) в образцах крови одного из донорских центров в Санкт-Петербурге. Образцы плазмы от 100 доноров крови из донорского центра ВМА были исследованы методом ИФА на наличие IgG-антител к парвовирусу В19. В положительных пробах методом ПЦР выявляли ДНК парвовируса В19. Использовали разрешенные к применению в РФ ИФА тест-систему gecomWell Parvovirus В19 IgG (Microgen GmbH, Германия) и наборы реагентов производства ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва) согласно инструкции. Было показано, что 78 из 100 доноров в возрасте от 18 до 58 лет имели IgG-антитела. 76 положительных образцов плазмы крови были исследованы методом ПЦР, при этом у 19 доноров обнаружили ДНК парвовируса В19 (25%). У одного донора вирусная нагрузка была выше 10^6 копий/мл. В этом случае имеет место высокий риск инфицирования реципиента. Полученные результаты согласуются с литературными данными. Очевидна необходимость количественного определения ДНК парвовируса В19 в препаратах крови.

Ключевые слова: парвовирус В19, донор, плазма крови, ДНК, IgG-антитела, безопасность.

Адрес для переписки:

Антипова Анастасия Юрьевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИЭМ имени Пастера.
Тел.: (812) 232-94-11 (служебн.); +7 (921) 346-07-90 (моб.).
E-mail: anti130403@mail.ru

Contacts:

Anastassia Y. Antipova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: (812) 232-94-11 (office); +7 (921) 346-07-90 (mobile).
E-mail: anti130403@mail.ru

Библиографическое описание:

Антипова А.Ю., Никишов О.Н., Хамитова И.В., Семенов А.В.,
Бичурина М.А., Кузин А.А., Лаврентьева И.Н. Скрининговое
исследование плазмы крови доноров на маркеры парвовирусной
инфекции // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 2. С. 171–174.
doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-171-174

Citation:

Antipova A.Y., Nikishov O.N., Khamitova I.V., Semenov A.V., Bichurina M.A.,
Kuzin A.A., Lavrentieva I.N. A screening research of plasma blood
donors for markers parvovirus infection // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 171–174.
doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-171-174

A SCREENING RESEARCH OF PLASMA BLOOD DONORS FOR MARKERS PARVOVIRUS INFECTIONAntipova A.Y.^a, Nikishov O.N.^b, Khamitova I.V.^a, Semenov A.V.^a, Bichurina M.A.^a, Kuzin A.A.^b, Lavrentieva I.N.^a^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation^b Federal State Military Educational Institution of Additional Professional Education Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Parvovirus B19 (PV B19) replicates predominantly in progenitor cells of human erythrocytes and is transmitted by an airborne, vertical through and through blood or infected tissues. At-risk are pregnant women, people with immunodeficiency of different nature and individuals who need blood transfusions or organ transplantation. The available data indicate a high risk of infection through transfusion of blood containing the DNA of parvovirus B19, with viral load 10^5 copies/ml and above (Hourfar M.K. et al., 2011). According to the requirements of national regulations, the production of therapeutic drugs from plasma assumes the use of raw materials, free from viruses or with minimal viral load (Filatova E.C. et al., 2011). In some foreign countries a study of donor blood for the presence of DNA PV B19 is required; in our country the need for such screening is discussed (Giburt E.B. et al., 2013). Due to the fact that parvovirus is resistant to the methods of blood products disinfection, it is especially important to assess the quality of donor blood. Objective: To investigate the prevalence of the two markers parvovirus infection (IgG and PV B19 DNA) in blood samples from one of the blood centers at St. Petersburg. Plasma samples from 100 blood donors from Military Medical Academy blood centre were tested by ELISA for the presence of IgG antibodies of parvovirus B19. Positive samples were tested by PCR for the DNA of parvovirus B19. ELISA test system recomWell Parvovirus B19 IgG (Microgen GmbH, Germany) and diagnostic kits of Federal State Institution of Science «Central research Institute for epidemiology» of Rospotrebnadzor (Moscow, Russia) which are approved for use in RF was used according to the manufacturers instructions. It was shown that 78 out of 100 donors aged 18 to 58 years had IgG-antibodies. 76 positive blood plasma samples were investigated by PCR, with the 19 donors have found DNA of parvovirus B19 (25%). Viral load of one donor was 10^6 copies/ml. In this case, there is the high risk of infection for the recipient. Results obtained are consistent with literature data. Obviously, it is need to investigate donor blood for parvovirus B19 presence. Obvious that quantification of the DNA of parvovirus B19 in blood products is need.

Key words: parvovirus B19, donor, plasma of blood, DNA, IgG, safety.

Введение

Согласно требованиям отечественных нормативных документов, в производстве лечебных препаратов из плазмы крови предполагается использование сырья, свободного от вирусов или с минимальной вирусной нагрузкой [4].

Парвовирус В19 (PV В19) человека является одним из контаминирующих агентов, передача которого может осуществляться парентерально, через препараты крови или при трансплантации костного мозга и органов [10, 12, 13]. Вирус поражает главным образом клетки-предшественники эритроцитов. Заболевание имеет широкий спектр проявлений. Тяжелыми осложнениями парвовирусной инфекции являются апластический криз, транзиторная анемия, парциальная красноклеточная аплазия костного мозга, фульминантный гепатит у иммунокомпрометированных лиц и людей с заболеваниями крови. Тяжелая форма заболевания развивается преимущественно у лиц с первичными иммунодефицитами различной этиологии [5, 8, 14]. Вирус обладает также тератогенным действием и вызывает водянку плода при трансплацентарной передаче [7].

Известно, что ДНК парвовируса В19 может определяться в крови клинически здоровых людей длительное время (до трех лет и более) после перенесенного заболевания [11]. По данным отечественных авторов, частота обнаружения ДНК парвовируса в крови доноров составляет 1,0–1,9% [5, 6].

Вирус устойчив к стандартным режимам стерилизации гемопродуктов [8]. Донация с вирусной нагрузкой, равной или превышающей 10^5 копий/мл, при пулировании может привести к заражению 50% реципиентов [9].

Было показано, что клинические проявления заболевания развиваются у 0,12% реципиентов, получивших препараты крови, содержащие PV В19 [15]. По данным белорусских исследователей, у пациентов с патологией кроветворных органов случаи парвовирусной инфекции равномерно распределены по сезонам года, что может быть связано с парентеральным путем передачи инфекции [2]. Заболеваемость населения в целом характеризуется зимне-весенней сезонностью [1]. В ряде зарубежных стран исследование донорской крови на наличие ДНК PV В19 является обязательным; в нашей стране необходимость проведения такого скрининга обсуждается [3, 4, 6].

Цель работы: оценить частоту встречаемости маркеров парвовирусной инфекции в образцах крови доноров одного из донорских центров, находящихся в Санкт-Петербурге.

Материалы и методы

Были исследованы образцы плазмы крови от 100 доноров из Центра (крови и тканей) Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова на наличие двух маркеров парвовирусной инфекции: ДНК вируса и IgG-антитела. Клинические образцы до исследования хранились

ТАБЛИЦА 1. ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ МЕТОДАМИ ИФА И ПЦР НА НАЛИЧИЕ МАРКЕРОВ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (IgG-АТ И ДНК)

Метод	Маркер PV В19	Общее количество исследованных образцов, абс.	Из них положительные, абс.	M±m%
ИФА	IgG-АТ	100	78	78±4,14
ПЦР	ДНК	76	19	25±4,50

ТАБЛИЦА 2. ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ

Число образцов	Вирусная нагрузка	ДНК PV В19 < 10 ⁴ копий/мл	10 ⁴ ≤ ДНК PV В19 ≤ 10 ⁵ копий/мл	10 ⁵ < ДНК PV В19 ≤ 10 ⁶ копий/мл	ДНК PV В19 > 10 ⁶ копий/мл	Всего
	Количество, абс./%		13/68,4	5/26,3	—	

при -70°C . Антитела к парвовирусу В19 класса IgG определяли с помощью тест-системы recomWell Parvovirus В19 IgG (Microgen diagnostic, Microgen GmbH, Германия) в соответствии с инструкцией по применению.

Для выделения ДНК PV В19 из плазмы крови использовали набор реагентов «ДНК-сорб-АМ» AmpliSens. Применяли диагностический набор «АмплиСенс® Parvovirus В19-FL» производства ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва), в соответствии с инструкцией по применению.

Статистические расчеты средних показателей, стандартного отклонения, стандартной ошибки выполняли с использованием общепринятых статистических методов.

Результаты и обсуждение

Были исследованы образцы плазмы крови доноров в возрасте от 18 до 58 лет (средний возраст 22,4 года). Исследование показало, что 78% доноров ($n = 78$) имели IgG-АТ к парвовирусу В19, то есть в прошлом перенесли парвовирусную инфекцию, что свидетельствует о ее широком распространении. Из IgG-положительных образцов 76 были исследованы методом ПЦР на наличие ДНК парвовируса В19. В 25% случаев ($n = 19$) были получены положительные результаты (табл. 1).

Из 19 положительных в ПЦР образцов в 68,4% вирусная нагрузка была меньше 10^4 копий/мл; 26,3% ДНК положительных проб содержали ме-

нее 10^5 копий/мл; в 5,3% (один донор) вирусная нагрузка составила более 10^6 копий ДНК/мл (табл. 2).

Таким образом, впервые получены данные о частоте встречаемости двух маркеров парвовирусной инфекции (ДНК и IgG антитела) у доноров крови Санкт-Петербурга.

Выявленная в настоящей работе частота встречаемости антител класса IgG к парвовирусу В19 среди доноров коррелирует с результатами проведенного ранее изучения популяционного иммунитета к парвовирусной инфекции на некоторых территориях Северо-Запада РФ [1].

Полученные результаты по частоте встречаемости ДНК парвовируса в крови клинически здоровых доноров не противоречат данным литературы [5, 6]. Следует особо подчеркнуть факт обнаружения донора, в плазме крови которого было выявлено $1,5 \times 10^6$ копий ДНК в мл. Показатель существенно превышает «порог безопасности» ($< 10^5$ копий/мл) донации для реципиента и указывает на реальную опасность инфицирования парвовирусом В19 при переливании препаратов крови.

Указанные данные являются предварительными вследствие небольшого числа обследованных доноров ($n = 100$). Проведенное исследование свидетельствует о целесообразности дальнейшей работы в этом направлении и необходимости тестирования донорской крови на определение количества ДНК парвовируса В19 с целью повышения безопасности для пациентов переливания препаратов крови.

Список литературы/References

1. Антипова А.Ю., Лаврентьева И.Н., Бичурин М.А., Лялина Л.В., Кутуева Ф.Р. Распространение парвовирусной инфекции в Северо-Западном федеральном округе России // Журнал инфектологии. 2011. Т. 3, № 4. С. 44–48. [Antipova A.Y., Lavrent'eva I.N., Bichurina M.A., Lialina L.V., Kutueva F.R. The Spread of parvovirus infection in the North-West Federal district of Russia. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2011, vol. 3, no. 4, pp. 44–48. (In Russ.)]
2. Ермолович М.А., Климович Н.В., Матвеев В.А., Самойлович Е.О., Романова О.Н., Черновецкий М.А. Сравнительные эпидемиологические аспекты парвовирусной инфекции В19 у больных с острыми экзантемными заболеваниями и гематологической патологией // Медицинский журнал. 2011. № 3. С. 61–65. [Yermolovich M.A., Klimovich N.V., Matveev V.A., Samoilovich E.O., Romanova O.N., Chernovetskiy M.A. Comparative epidemiological aspects of parvovirus В19 infection in patients with acute asanteni diseases and hematological pathology. *Meditsinskii zhurnal = Medical Journal*, 2011, no. 3, pp. 61–65. (In Russ.)]
3. Жибурт Е.Б., Баранова О.В., Рейзман П.В., Кузьмин Н.С. Новое в трансфузиологии (на XXVIII Конгрессе Международного общества переливания крови). Режим доступа: <http://www.transfusion.ru/doc/2004-09-03-1.html>. Дата обращения: 25.02.2015

- [Giburt E.B., Baranov O.V., Reisman P.V., Kuzmin N.S. *Novoe v transfuziologii (na XXVIII Kongresse Mezhdunarodnogo obshchestva perelivaniya krovi)* [New in Transfusiology (XXVIII Congress of the International society of blood transfusion). Available at: <http://www.transfusion.ru/doc/2004-09-03-1.html>]
4. Об утверждении технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии (с изменениями от 12 октября 2010 г.): Постановление Правительства РФ от 26 января 2010 г. № 29 (ред. от 04.09.2010) // Собрание законодательства Российской Федерации. 2010, № 5, ст. 536. 31 с. [*Ob utverzhenii tekhnicheskogo reglamenta o trebovaniyakh bezopasnosti krovi, ee produktov, krovzameshchayushchikh rastvorov i tekhnicheskikh sredstv, ispol'zuemykh v transfuzionno-infuzionnoi terapii (s izmeneniyami ot 12 oktyabrya 2010 g.)*: *Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 26 yanvarya 2010 g. № 29 (red. ot 04.09.2010)* [On approval of technical regulation on the safety requirements of blood products, blood and technical solutions tools used in transfusion-infusion therapy (with amendments as of October 12, 2010): the RF Government Decree of 26 January 2010, no. 29 (as amended on 04.09.2010)]. *Sobranie zakonodatel'stva Rossiiskoi Federatsii = Collected Legislation of the Russian Federation, 2010, no. 5, p. 536. 31 p.*]
 5. Судариков А.Б., Глинщикова О.А., Макарик Т.В., Февралева И.С. Мультиплексная диагностика вирусов гепатитов В, С и парвовируса В19 у больных, получающих множественные гемотрансфузии // Гематология и трансфузиология. 2008. № 4. С. 54–56. [Sudarikov A.B., Glinschikova O.A., Makarik T.V., Fevraleva I.S. Multiplex diagnostics of viral hepatitis, and parvovirus B19 in patients receiving multiple transfusion. *Gematologiya i transfuziologiya = The Hematology and Transfusiology, 2008, no. 4, pp. 54–56. (In Russ.)*]
 6. Элижбаева М.А., Февралева И.С., Глинщикова О.А., Сильвейстрова О.Ю., Шипулина О.Ю., Домонова Э.А., Сафонова А.П., Овчинникова Е.Н., Татаева З.М., Судариков А.Б. Выявление парвовируса В19 в крови российских доноров // Гематология и трансфузиология. 2011. Т. 56, № 2. С. 10–13. [Alizhbaeva M.A., Fevraleva I.S., Glinschikova O.A., Silvestrova O.Yu., Shipulina O.Yu., Domonova E.A., Saphonova A.P., Ovchinnikova E.N., Tataeva Z.M., Sudarikov A.B. Detection of parvovirus B19 in blood Russian donors. *Gematologiya i transfuziologiya = The Hematology and Transfusiology, 2011, vol. 56, no. 2, pp. 10–13. (In Russ.)*]
 7. Chisaka H., Ito K., Niikura H., Sugawara J., Takano T., Murakami T., Terada Y., Okamura K., Shiroishi H., Sugamura K., Yaegashi N. Clinical manifestations and outcomes of parvovirus B19 infection during pregnancy in Japan. *Tohoku J. Exp. Med., 2006, vol. 209, pp. 277–283. doi: 10.1620/tjem.209.277*
 8. Heegaard E., Brown K. Human parvovirus B19. *Clin. Microb. Rev., 2002, vol. 15, no. 3, pp. 485–505. doi: 10.1128/CMR.15.3.485-505.2002*
 9. Hourfar M.K., Mayr-Wohlfart U., Themann A., Sireis W., Seifried E., Schrezenmeier H., Schmidt M. Recipients potentially infected with parvovirus B19 by red blood cell products. *Transfusion, 2011, vol. 51, no. 1, pp. 129–136. doi: 10.1111/j.1537-2995.2010.02780.x*
 10. Jordan J., Tiangco B., Kiss J., Koch W. Human parvovirus B19: prevalence of viral DNA in volunteer blood donors and clinical outcomes of transfusion recipients. *Vox Sang., 1998, vol. 75, pp. 97–102. doi: 10.1046/j.1423-0410.1998.7520097.x*
 11. Lefrère J.-J., Servant-Delmas A., Candotti D., Mariotti M., Thomas I., Brossard Y., Lefrère F., Girot R., Allain J.-P., Laperche S. Persistent B19 infection in immunocompetent individuals: implications for transfusion safety. *Blood, 2005, vol. 106, no. 8, pp. 2890–2895. doi: 10.1182/blood-2005-03-1053*
 12. Marano G., Vaglio S., Pupella S., Facco G., Calizzani G., Candura F., Liumbruno G.M., Grazzini G. Human parvovirus B19 and blood product safety: a tale of twenty years of improvements. *Blood Transfus., 2014, vol. 13, pp. 1–13. doi: 10.2450/2014.0174-14*
 13. Trimble S., Parker C.S., Grant A.M., Soucie J.M., Reyes N. Assessing emerging infectious threats to blood safety for the blood disorders community. *J. Prev. Med., 2010, vol. 38, pp. 468–474. doi: 10.1016/j.amepre.2009.12.019*
 14. Young N.S., Brown K.E. Mechanisms of disease: parvovirus B19. *N. Engl. J. Med., 2004, vol. 350, no. 6, pp. 586–597. doi: 10.1056/NEJMr030840*
 15. Yu M.Y., Alter H.J., Virata-Theimer M.L., Geng Y., Ma L., Schechterly C.A., Colvin C.A., Luban N.L. Parvovirus B19 infection transmitted by transfusion of red blood cells confirmed by molecular analysis of linked donor and recipient samples. *Transfusion, 2010, vol. 50, no. 8, pp. 1712–1721. doi: 10.1111/j.1537-2995.2010.02591.x*

Авторы:

Антипова А.Ю., к.б.н., научный сотрудник лаборатории детских вирусных инфекций, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Никишов О.Н., преподаватель кафедры общей и военной эпидемиологии ФГБВОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия;
Хамитова И.В., зав. центральной клинико-диагностической лабораторией ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Семенов А.В., к.б.н., зав. лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Бичурина М.А., д.м.н., зав. вирусологической лабораторией центра по элиминации кори и краснухи, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Кузин А.А., д.м.н., доцент, кафедра общей и военной эпидемиологии ФГБВОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия;
Лаврентьева И.Н., д.м.н., зав. лабораторией детских вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Antipova A.Y., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Childhood Virus Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Nikishov O.N., Lecturer, Department of General and Military Epidemiology, Federal State Military Educational Institution of Additional Professional Education Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation;
Khamitova I.V., Head of the Central Clinic Diagnostic Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Semenov A.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of HIV Immunology and Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Bichurina M.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Virology Laboratory by Elimination Measles and Rubella, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Kuzin A.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of General and Military Epidemiology, Federal State Military Educational Institution of Additional Professional Education Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation;
Lavrentieva I.N., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Childhood Virus Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 20.03.2015
 Принята к печати 30.03.2015

Received 20.03.2015
 Accepted 30.03.2015