Анализ лабораторного скрининга при банкировании пуповинной крови

О.В. Тюмина[1], Г.И. Гусарова [2], В.В. Павлов [3], М.Н. Жарков [1], С.Е. Волчков[1], А.Н. Тороповский[1], Н.Н. Краснова [4], И.А. Нижегородцева [4], В.А. Россиев [4], В.Г. Савченко [5]

[1]ГУП Самарской области «Поволжский банк гемопоэтических клеток»
[2]Министерство здравоохранения Самарской области
[3]Самарский государственный медицинский университет
[4]Самарская областная больница им. М.И. Калинина
[5]Гематологический научный центр РАМН, Москва

Ключевые слова: пуповинная кровь, контаминация, лабораторный скрининг.

Цель исследования – провести анализ лабораторного скрининга на наличие инфекционных агентов при заготовке пуповинной крови для публичного использования. Мы исследовали 586 донорских образцов ПК методом иммуноферментного анализа в первые 24 часа после родов на наличие следующих серологических маркеров: HIV–1 и –2 Ag/Ab, Anti–HBcor, HBs–Ag, Anti–HCV, Anti–CMV, Anti–Toxoplasma gondii, Anti–HSV–1 и –2, RW, также проводилось бактериологическое исследование образцов ПК. Установлено, что 73 (12,5%) образца ПК утилизированы по причине инфекционной опасности. Из них положительный анализ на HBs–Ag выявлен в 3 образцах (0,5%); Anti–HCV – в 5 образцах (0,9%); RW – в 6 образцах (1%); Anti–HBcor – в 59 образцах (10%). Процент высеваемости микробов–контаминантов составил 0,1%. Таким образом, для уменьшения процента утилизации образцов ПК в обязательный лабораторный скрининг женщин–доноров ПК должен быть включён анализ на Anti–HBcor. Использование закрытых методик забора и обработки крови, а также готовых универсальных сред позволяет практически исключить возможность контаминации образцов ПК воздушной флорой.

Лабораторный скрининг на наличие инфекционных агентов является одним из обязательных этапов исследования в технологии банкирования пуповинной крови (ПК) и подготовки образцов к клиническому использованию. История создания банков ПК началась во Франции с 1988 г. [1,2]. Сегодня целая сеть как государственных, так и частных банков пуповинной крови (ПК) работает за рубежом. Разработан единый международный стандарт для банков ПК «International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and realease», который регламентирует все процедуры работы с образцом ПК (получение крови, тестирование, обработка, криохранение).

В России история создания банков пуповинной крови началась с 2003 г, только два банка (в Москве и Самаре), являясь государственными, осуществляют хранение образцов для публичного использования. Основным документом, регламентирующим деятельность банков ПК в РФ, является Приказ Министерства здравоохранения РФ № 325 от 25.07.2003 г. «О развитии клеточных технологий в Российской Федерации».

В настоящей статье проведён анализ результатов лабораторного скрининга, проводимого в процессе обработки ПК на наличие инфекционных агентов по материалам работы государственного банка ПК, созданного в Самаре в 2003 г.

Материал и методы

Сбор ПК производился после получения информированного согласия у беременной женщины, которая проходила тщательный дородовый скрининг на наличие противопоказаний к донорству ПК (тяжёлые соматические заболевания, отягощённый семейный анамнез, акушерская патология). Донором не может быть беременная женщина при положительных результатах тестирования на наличие следующих инфекций: ВИЧ 1 и 2, сифилис, гепатит В и С, острая стадия следующих инфекций (положительный Ig M) – вируса простого герпеса 1 и 2, цитомегаловируса, токсоплазмоза. Информация о женщине – доноре плацентарной крови кодировалась и заносилась в анонимном виде в базу данных банка. Сбор ПК проводился как при физиологических, так и при оперативных родах закрытым способом в стандартную систему для забора донорской крови (контейнеры пластиковые одинарные CPDA–1 250 GG, Terumo).

Всего 586 образцов ПК подвергнуто обработке и криозамораживанию. Один из основных этапов в процессе обработки ПК – лабораторный скрининг ПК на наличие инфекций. В соответствии с приказом МЗ РФ № 325 от 25.07.2003 г. проводилось исследование крови методом иммуноферментного анализа на аппарате «Axsym system» (Abbott) в первые 24 часа после родов на наличие следующих серологических маркеров: HIV–1 и –2 Ag/Ab, Anti–HBcor, HBs–Ag, Anti–HCV (тест–системы фирмы Abbott), на аппарате SANOFI Pasteur проводилось исследование на Anti–CMV, Anti–Toxoplasma gondii, Anti–HSV–1 и –2, RW (тест–системы ЗАО «Вектор–Бест», ЗАО «ЭКОлаб»). Для микробиологического исследования образцов ПК использовалась универсальная среда HiCombi Dual Performance Medium производства компании HIMEDIA. Для бактериологического исследования проводился забор 5 мл плазмы, полученной в результате обработки ПК по методу Рубинштейна – двойное центрифугирование (с добавлением гидроксиэтилкрахмала [3]) или аппаратным методом с помощью сепаратора Sepax Швейцарской фирмы «Biosafe» по протоколу «UCB–HES» v.110.

Результаты и обсуждение

Из 586 образцов ПК 73 (12,5%) было утилизировано по причине инфекционной опасности. Из них положительный анализ на HBs–Ag выявлен в 3 образцах (0,5%); Anti–HCV –

в 5 образцах (0,9%); RW – в 6 образцах (1%); Anti–HBcor – в 59 образцах (10%). Высокий процент выявляемости антител к ядерному антигену гепатита В (10%) связан с высокой персистенцией вируса гепатита В в популяции и свидетельствует в пользу перенесённого гепатита. Данный анализ не входит в обязательный перечень обследований, как для доноров крови [4], так и беременных женщин, однако является обязательным при тестировании ПК в связи с более высокими требованиями к безопасности концентрата прогениторных клеток ПК [5].

Положительный титр антител класса Ig G к CMV был выявлен в 528 образцах (90%), к Toxoplasma gondii – в 246 образцах (48%), к вирусу герпеса – в 550 образцах (94%), что свидетельствует о высокой встречаемости данных инфекций в популяции и не является показанием к утилизации образцов ПК.

Для микробиологического анализа исследуемых образцов крови на стерильность и грибы использовалась двухфазная готовая среда HiCombi Dual Performance Medium производства компании HIMEDIA. Спектр выявленных микроорганизмов представлен следующим образом: *S. Epidermidis* (0,1%), *E. Coli* (0,5%), *Kl. Pneumoniae* (2%), *S. Warneri* (0,3%), *S. Hominis* (1%), *S. Haemolyticus* (0,5%), *Str. Haemolyticus* (0,3%), *Ent. Faecalis* (1%), *A. Viridans* (0,1%). Общий процент высеваемости составил 5,8%. Благодаря использованию закрытого способа забора ПК, закрытых способов обработки ПК, а также готовой универсальной среды HiCombi (для исключения возможности контаминации проб воздушной флорой) процент высеваемости микробов–контаминантов (A. Viridans) составил всего 0,1%. В соответствии с международными стандартами, у выявленных микроорганизмов была определена чувствительность к антибиотикам.

Заключение

Проведенная исследовательская работа показала, что для уменьшения процента утилизации образцов ПК в обязательный лабораторный скрининг женщин–доноров ПК должен быть включён анализ на Anti–HBcor.

Использование закрытых методик забора и обработки крови, а также готовых универсальных сред позволяет практически исключить возможность контаминации образцов ПК воздушной флорой.

ЛИТЕРАТУРА:

1.Gluckman E., Broxmeyer H.E., Auerbach A.D. et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconis anemia by means of umbilical–cord blood from HLA–identical sibling. N. Engl. J. Med. 1989; 321:1174–8.

2.Gluckman E. Hematopoietic Stem–Cell transplants using umbilical–cord blood N. Engl. J. Med. 2001; 344 (24): 1860–1.

3.Rubinstein P., Dobrila L., Rosenfield R. E. et al. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1995; 92(22): 10119–22

4.Приказ МЗ РФ №364 от 14.09.01 «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и её компонентов».

5. Приказ МЗ РФ №325 от 25.07.03 «О развитии клеточных технологий в Российской Федерации».