

7. Бодиенкова Г.М., Иванская Т.И., Лизаров А.В. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2006; 33(49): 22–8.

REFERENCES

1. Izmerov N.F., Suvorov G.A. Physical factors of production and the environment. *Hygienic evaluation and control*. Moscow, Meditsina. 2003. (in Russian)
2. Piktushanskaya T.E. *Meditsina truda i promyshlennaya ecologiya*. 2009; 1: 32–7. (in Russian)
3. Antoshina L.I., Pavlovskaya N.A. *Meditsina truda i promyshlennaya ecologiya*. 2009; 12: 22–7. (in Russian)
4. Kaptsov V.A., Pavlovskaya N.A., Velichkovskiy B.T. et al. *Laboratory diagnosis: a guide to professional research methods, environmentally related diseases and drug action*. Moscow, "REINFOR." 2005. (in Russian)
5. Kir'yakov V.A., Pavlovskaya N.A., Antoshina L.I. et al. *Clinical laboratory diagnosis of occupational diseases*. Moscow, "Soyus Press". 2013; 83–132. (in Russian)
6. Kuskova L.V. *Condition E-vitamin activity and androgens in patients with vibration disease*. Diss. Leningrad. 1988.
7. Bodienkova G.M., Ivanskaya T.I., Lizarov A.V. *Bulleten' VSNTS SO RAMN*. 2006; 33(49): 22–8. (in Russian)

Поступила 15.05.14
Received 15.05.14

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 615.33.03:616.155.394-053.2].015.4.074:543.544.45

Захаревич В.И.¹, Шабуня П.С.², Фатыхова С.А.², Курман П.В.², Дмитриев В.В.¹

ФАРМАКОКИНЕТИКА КОЛИСТИНА ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ КОЛИСТИМЕТАТА НАТРИЯ У ДЕТЕЙ С ХИМИОИНДУЦИРОВАННОЙ НЕЙТРОПЕНИЕЙ

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» Минздрава Республики Беларусь; ²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск

Распространение госпитальных штаммов P. aeruginosa, A. baumannii и K. pneumoniae, обладающих множественной лекарственной устойчивостью к подавляющему большинству антибиотиков, вновь вызвало повышенный интерес к колистину, однако до сих пор информации о фармакокинетике колистина недостаточно для оптимизации дозирования данного препарата.

Цель исследования – изучить фармакокинетику колистина и коллистиметата натрия у детей с химиоиндуцированной нейтропенией.

Для количественного определения колистина в сыворотке крови нами был применен метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-спектрометрией. Определена концентрация колистина после внутривенного введения коллистиметата натрия у 21 ребенка (13 пациентов с сепсисом, 8 детей контрольной группы) с химиоиндуцированной нейтропенией. Выявлена существенная вариабельность фармакокинетических параметров колистина как у пациентов с сепсисом, так и в контрольной группе. Метод ВЭЖХ с масс-спектрометрией можно использовать для терапевтического лекарственного мониторинга и оптимизации режима дозирования.

Ключевые слова: колистин; коллистиметат натрия; фармакокинетика; дети; сепсис; нейтропения.

Zakharevitch V.I., Shabunya P.S., Fatykhova S.A., Kurman P.V., Dmitriev V.V.

THE PHARMACOKINETICS OF COLISTIN UNDER PARENTERAL INJECTION OF SODIUM COLISTIMITATE IN CHILDREN WITH CHEMICALLY INDUCED NEUTROPENIA

¹The center of children oncology, hematology and immunology Moscow, Russia; ²The institute of bio-organic chemistry of the National academy of sciences of Belarus, Minsk, the Republic of Belarus

The prevalence of hospital strains of P.aeruginosa, A.baumannii and K.pneumoniae characterizing by multiple drug resistance to overwhelming majority of antibiotics anew evoked an increased interest to colistin. However, until now there is not enough information concerning pharmacokinetics of colistin to optimize dosage of this pharmaceutical. The study was carried out to analyze pharmacokinetics of both colistin and sodium colistimitate in children with chemically induced neutropenia. To quantitatively detect colistin in blood serum the technique of highly effective fluid chromatography with mass spectrometry was applied. The concentration of colistin was detected in 21 children with chemically induced neutropenia (13 patients with septicemia, 8 children of control group) after intravenous injection of sodium colistimitate. The significant variability of pharmacokinetic parameters of colistin was established both in patients with septicemia and in control group. The technique of highly effective fluid chromatography with mass spectrometry can be applied for therapeutic medicinal monitoring and optimization regimen of dosage.

Key words: colistin; sodium colistimitate; pharmacokinetics; children; septicemia; neutropenia

Для корреспонденции:

Захаревич Василий Иосифович, науч. сотр.
E-mail: shaderean@gmail.com

Увеличение числа случаев инфекционных осложнений, вызванных *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, устойчивыми к большинству антибактериальных лекарственных средств, представляет серьезную проблему для пациентов любого профиля, особенно в состоянии фебрильной нейтропении [1, 2]. Колистин, известный как полимиксин E₂ – первый антибиотик с доказанным “противосинежной” эффектом, был представлен на рынке в 1959 г. [3, 4]. Из-за выраженной нейро- и нефротоксичности, а также вследствие внедрения в клиническую практику аминогликозидов колистин длительное время был позиционирован в качестве лекарственного средства второй линии [5, 6]. Изучение особенностей взаимодействия колистина с формальдегидом в присутствии натрия бисульфита позволило синтезировать натриевую соль колистина метансульфоната, получившую впоследствии название colistimethate sodium (CMS) – колестиметат натрия. В водной среде при температуре 37°C этот препарат способен к гидролизу с образованием сульфометилированных производных и колистина. Новое лекарственное средство, содержащее колестиметат натрия, продукты его гидролиза и колистин, обладало такими же антимикробными свойствами и было менее токсично [7]. Данное обстоятельство вкупе с появлением госпитальных штаммов *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью к подавляющему большинству антибиотиков, вновь вызвало повышенный интерес клиницистов к колестиму [8–12].

Колестин является многокомпонентным полипептидным антибиотиком, содержащим два основных компонента: колестин А (полимиксин E1) и колестин В (полимиксин E2). В медицинской практике доступны две лекарственные формы: первая – колестина сульфат для местного применения и приема внутрь; вторая – колестина метасульфонат натрия, рекомендованная для парентерального применения путем внутривенных или внутримышечных инъекций или в виде аэрозоля.

Одна из первых публикаций, в которой представлены результаты определения концентрации колестиметата натрия в крови и моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), принадлежит Li Jian и соавт. [6]. В сыворотке крови выявлен колестиметат натрия в количестве от 0,1 мг/л и более [6, 7], что позволило исследователям оценить фармакокинетические параметры колистина и колестиметата натрия у экспериментальных животных и у взрослых пациентов, страдавших муковисцидозом. Лишь в 2006 г. стало известно, что колестиметат натрия является неактивным пролекарством колистина и именно активный колестин обеспечивает антимикробный эффект препарата [13]. Данные о фармакокинетике колистина и колестиметата натрия у детей с сепсисом в состоянии нейтропении, индуцированной химиотерапией, в связи со злокачественным новообразованием в публикациях не приведено.

Цель исследования – изучить фармакокинетику колистина и колестиметата натрия у детей с химиоиндуцированной нейтропенией.

Материалы и методы. Для количественного определения колистина в сыворотке крови нами был применен метод ВЭЖХ с масс-спектрометрией. При разработке условий разделения, пробоподготовки и выбора параметров работы масс-детектора за основу взяты данные литературы [14, 15]. В работе использовали жидкостный хроматограф Agilent 1200, соединенный с tandemным масс-спектрометром Agilent 6410 Triple Quad (“тройной квадруполь”). Разделение компонентов проб выполняли на колонке ZORBAX SB C18 (2,1×30 мм; 3,5 мкм) при температуре 30°C. Подвижные фазы – 0,5% (об/об) раствор муравьиной кислоты в деионизованной воде (фаза А) и ацетонитрил (фаза В). Был использован градиентный режим элюирования от 5 до 60% фазы В за 10 мин при скорости потока 0,3 мл/мин. Общее время анализа составило 15 мин. Объем инъекции 10 мкл. Температура термостата автосамплера 10°C. Параметры работы масс-селективного

детектора: интерфейс ионизации – электроспрей Agilent G1948B API-ES в режиме положительных ионов. Температура осушающего газа 300°C; скорость потока осушающего газа 10 л/мин; давление на распылителе 40 psi; напряжение на капилляре 4000 В. Для количественного анализа колистина А использовали режим детектирования заданных масс (Multi Reaction Monitoring – MRM) при следующих переходах: m/z 293,2 → 44,1; m/z 293,2 → 56,1; m/z 293,2 → 123,1. Напряжение на фрагменторе для каждого перехода составляло 84 В, энергия в ячейке соударений для первых двух переходов – 42 В, для последнего – 6 В. Качественный и количественный анализ хроматограмм и масс-спектров проводили с использованием компьютерного обеспечения Agilent MassHunter Workstation Software version B.01.03 (Agilent Technologies Inc., USA).

Материалы и методы. Ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ (Fisher Chemical), муравьиная кислота (Acros), серная кислота (ч.д.а.), цинка сульфат (ч.д.а.), натрия гидроксид (ч.д.а.), вода деионизованная, контрольная сыворотка с биохимическими параметрами, близкими к таковым у здорового человека. Натриевая соль колистина метансульфоната (colistimethate sodium) «колестиметат натрия» Colomycin® производства Forest Laboratories UK Ltd (Dartford, Kent, Великобритания), 1 мг которого эквивалентен 12 500 МЕ, являлась стандартом для приготовления калибровочных растворов.

Описание методики. Содержание гидролизованного колестиметата (испытуемый раствор 1) определяли по колестину, появляющемуся в плазме крови в результате естественного гидролиза колестиметата натрия. Для вычисления концентрации негидролизованного колестиметата (испытуемый раствор 2) образцы предварительно обрабатывали серной кислотой. Разница между содержанием в сыворотке крови колистина натрия до и после кислотного гидролиза (*in vitro*) позволила рассчитать концентрацию колестиметата натрия в сыворотке крови.

Испытуемый раствор 1: 0,5 мл испытуемой сыворотки крови помещали в эппендорф вместимостью 1,5 мл. Туда же помещали 50 мкл деионизованной воды. Затем добавляли 125 мкл 20% раствора сульфата цинка, гомогенизировали 3–5 с, добавляли 125 мкл 1 М раствора гидроксида натрия, 150 мкл ацетонитрила, снова гомогенизировали и затем центрифугировали при 6500g в течение 10 мин. Супернатант фильтровали через шприцевый мембранный фильтр (0,45 мкм) в хроматографическую вialу и анализировали не позднее, чем через 12 ч.

Испытуемый раствор 2 (определение суммарной концентрации колестиметата натрия – гидролизованного и связанного колистина): 0,5 мл испытуемой сыворотки крови помещали в эппендорф вместимостью 1,5 мл. Туда же помещали 50 мкл деионизованной воды и 50 мкл 1 М раствора серной кислоты. Смесь гомогенизировали 3–5 с путем интенсивного встряхивания и выдерживали 1 ч при комнатной температуре (не выше 25°C). Затем добавляли 125 мкл 20% раствора сульфата цинка, гомогенизировали 3–5 с, добавляли 125 мкл 1 М раствора гидроксида натрия, 150 мкл ацетонитрила, снова гомогенизировали и затем центрифугировали при скорости вращения 6500g в течение 10 мин. Супернатант фильтровали через шприцевый мембранный фильтр (0,45 мкм) в хроматографическую вialу и анализировали не позднее, чем через 12 ч.

Приготовление калибровочных растворов. Сток-раствор колестиметата натрия в воде в концентрации 1900 МЕ (0,15 мг/мл) готовили весовым методом. В пластиковые пробирки вместимостью 1,5 мл вносили по 400 мкл контрольной сыворотки и 100 мкл растворов колестиметата натрия в различных концентрациях. Дальнейшую пробоподготовку проводили так же, как указано для испытуемого раствора 2. Диапазон концентраций колестиметата натрия в полученных калибровочных растворах составлял 0,38–190 МЕ /мл (0,03–15,3 мкг/мл).

Расчеты концентраций веществ в испытуемых растворах выполняли методом внешнего стандарта по калибровочным зависимостям. Коэффициент вариации (C_v) количественного

определения колистина сульфата по результатам оценки объединенной группы из 12 наблюдений составил $(0,254 / 9,94) \cdot 100 = 2,55\%$, норматив контроля повторяемости методики 7,5%. Предел количественного определения колистина составил 0,38 МЕ/мл (0,031 мг/л).

После получения информированного согласия родителей в исследование были включены дети в возрасте от 3 до 18 лет (11 мальчиков и 10 девочек) как с солидными злокачественными новообразованиями, так и с гемобластомами на разных этапах терапии. У всех пациентов на момент обследования зарегистрирована индуцированная химиотерапией нейтропения (уровень нейтрофилов < 500 клеток в 1 мкл). Развитие фебрильной нейтропении у 13 пациентов с сепсисом и 8 пациентов контрольной группы стало показанием для проведения антибактериальной терапии, включая назначение колистина. Для внутривенного введения использовали лекарственное средство колестиметат натрия Colomycin® производства Forest Laboratories UK Ltd (Dartford, Kent, Великобритания), 1 мг которого эквивалентен 12 500 МЕ. Введение суточной дозы лекарственного средства, разрешенной инструкцией по медицинскому применению колестиметата натрия, осуществляли путем 30-минутной инфузии 25 000–50 000 МЕ/кг каждые 8 ч. Фармакокинетическое исследование проводили через 36–48 ч после первого введения лекарственного средства после достижения им стационарной концентрации.

Взятие крови из центрального венозного катетера для определения концентрации колистина и колестиметата натрия в крови пациентов проводили в определенные временные интервалы: непосредственно перед очередным введением препарата; непосредственно после завершения инфузии препарата (ч = 0); через 1 ч после завершения инфузии препарата (ч + 1); через 2 ч после завершения инфузии препарата (ч + 2); через 4 ч после завершения инфузии препарата (ч + 4); через 8 ч после завершения инфузии препарата (ч + 8). Не позднее 30 мин от момента взятия крови сыворотку в объеме не более 500 мкл в пластиковых пробирках типа эппендорф помещали в морозильную камеру температуры -20°C , где хранили до момента выполнения исследования не более 1 мес. На протяжении 24 ч от начала фармакокинетического исследования дополнительно определяли клиренс эндогенного креатинина (КЭК) методом Реберга–Тареева с использованием технических нормативно-правовых актов, регламентирующих процесс, и средств измерения, разрешенных для применения в организации здравоохранения.

Методы статистической обработки включали определение в каждом вариационном ряду средних значений, ошибки среднеквадратичного отклонения и расчет величин $\pm 95\%$ доверительного интервала (ДИ). Достоверность различий определяли по критерию Манна–Уитни (U -test), а для парно связанных вариантов по критерию Вилкоксона (T -test) с помощью программного обеспечения Statistica 6.0. Расчеты фармакокинетических параметров проведены для однокамерной модели с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010 с использованием трапезоидального правила. Рассчитаны площадь под фармакокинетической кривой (AUC) колистина, а также фармакокинетические параметры колестиметата натрия: площадь под AUC , видимый объем распределения, общий клиренс (Cl), период полувыведения ($T_{1/2}$).

Результаты и обсуждение. Перед введением пациентам контрольной группы очередной дозы колестиметата натрия исходное содержание колестиметата натрия в крови в среднем составляло 0,08 мг/л, изменяясь в пределах 95% ДИ от 0,07 до 0,24 мг/л. Непосредственно после завершения внутривенной инфузии колестиметата натрия выявлено повышение содержания в крови колестиметата до 3,25 мг/л, что в пределах 95% ДИ составило от 1,4 до 5,11 мг/л (см. таблицу).

Исходная концентрация колистина 0,34 (0,14–0,54) мг/л по достижении им стационарной концентрации у пациентов с сепсисом была выше ($p = 0,032$), чем величина аналогичного показателя (0,08 (0,014–0,15) мг/л) у детей контрольной

Концентрация (в мг/л) колистина и колестиметата натрия у детей в состоянии нейтропении, индуцированной химиотерапией, средние значения ($\pm 95\%$ ДИ)

Группа пациентов: этап исследования	Колистин	Колестиметат
Контроль, $n = 8$:		
перед очередным введением	0,08 (0,014–0,15)	0,08 (0,07–0,24)
после введения	1,02 (0,39–1,65)	3,25 (1,40–5,11)
через 1 ч	0,70 (0,15–1,26)	1,84 (1,19–2,48)
через 2 ч	0,52 (0,08–0,96)	0,96 (0,55–1,38)
через 4 ч	0,33 (0,02–0,63)	0,33 (0,07–0,59)
через 8 ч	0,21 (0,002–0,41)	0,15 (0,09–0,4)
Сепсис, $n = 13$:		
перед очередным введением	0,34 (0,14–0,54)	0,06 (0,02–0,10)
после введения	1,03 (0,77–1,29)	3,74 (2,16–5,31)
через 1 ч	0,82 (0,55–1,09)	1,10 (0,67–1,52)
через 2 ч	0,70 (0,43–0,97)	1,01 (0,39–1,63)
через 4 ч	0,51 (0,27–0,74)	0,33 (0,18–0,49)
через 8 ч	0,34 (0,14–0,54)	0,07 (0,02–0,12)

группы. Исходная концентрация колестиметата натрия 0,06 (0,02–0,1) мг/л была такой же, как и в контроле (0,08(0,07–0,24) мг/л). После введения очередной дозы колестиметата натрия концентрация колестиметата в крови повысилась до 3,74 (2,16–5,31) мг/л, что не отличалось ($p=0,9$, U -test) от величины данного показателя в контроле (3,25 (1,4–5,11) мг/л). Концентрация колистина в крови в этот момент составила 1,03 (0,77–1,29) мг/л, что также не превышало аналогичный показатель у детей, не имевших сепсиса. Через 8 ч концентрация колистина и его предшественника не отличались от исходных значений.

Учитывая особенности лекарственной формы (колестиметат натрия является пролекарством, спонтанно гидролизующимся в водной среде до активного вещества – колистина основания), фармакокинетику колистина нельзя описать стандартной однокамерной моделью, поскольку фактическая доза (количество активного колистина, образовавшегося из колестиметата) остается неизвестной. Тем не менее на основании полученных данных можно рассчитать следующие фармакокинетические параметры: C_{\max} , C_{\min} (путем экстраполяции экспоненциальной функции), площадь под AUC .

Площадь под AUC колистина, представленная в виде средней ($\pm 95\%$ ДИ), составила 18,755 (11,599–25,911) у пациентов с сепсисом и 11,356 (3,635–19,076) мг·сут/л у пациентов контрольной группы ($p=0,149$). Максимальная концентрация колистина C_{\max} у пациентов с сепсисом и в контрольной группе составила 1,16 (0,84–1,49) и 0,96 (0,41–1,51) мг/л соответственно ($p=0,44$).

Из приведенных данных можно сделать заключение о существенной вариабельности фармакокинетических параметров колистина как у пациентов с сепсисом, так и в контрольной группе, которая отражает, по-видимому, различную выраженность патофизиологических процессов, сопровождающих критические состояния (синдром “капиллярной утечки”, гипопротейнемия, гиперфилтрация вследствие увеличения сердечного выброса и т. д.).

Внесенная в методику модификация позволяет определять содержание колистина и колестиметата натрия для расчета фармакокинетических параметров, что необходимо для ситуационной коррекции дозы лекарственного средства и индивидуализации терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Giamarellou H., Antoniadou A. Antipseudomonal antibiotics. *Med. Clin. N. Am.* 2001; 85: 19–42.
- Evans M.E., Feola D.J., Rapp R.P. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Ann. Pharmacother.* 1999; 33: 960–7.
- Barnett M., Bushby S.R., Wilkinson S. Sodium sulphomethyl derivatives of polymyxins. *Br. J. Pharmacol.* 1964; 23: 552–74.
- Schwartz, B.S., Warren, M.R., Barkley, F.A. et al. Microbiological and pharmacological studies of colistin sulphate and sodium colistin methanesulfonate. *Antibiotics Annual.* 1960, 1959–1960; 7: 41–60.
- Li J., Turnidge J., Milne R., Nation R.L. et al. In vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45: 781–5.
- Jian Li, Robert W., Milnel R. et al. Simple Method for Assaying Colistin Methanesulfonate in Plasma and Urine Using High-Performance Liquid Chromatography. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(10): 3304–7.
- Jian Li, Kingsley Coulthard, Robert Milne et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003; 52: 987–92.
- He H., Li J.C., Nation R.L., Jacob J., Chen G., Lee H.J. et al. Pharmacokinetics of four different brands of colistimethate and formed colistin in rats. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013; 68(10): 2311–7.
- Lee J., Han S., Jeon S., Hong T., Song W., Woo H. et al. Population Pharmacokinetic Analysis of Colistin in Burn Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(5): 2141–6.
- Imberti R., Cusato M., Accetta G., Marinò V., Procaccio F., Del Gaudio A. et al. Pharmacokinetics of Colistin in Cerebrospinal Fluid after Intraventricular Administration of Colistin Methanesulfonate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56(8): 4416–21.
- Ly N.S., Yang J., Bulitta J.B., Tsuji B.T. Impact of Two-Component Regulatory Systems PhoP-PhoQ and PmrA-PmrB on Colistin Pharmacodynamics in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56(6): 3453–6.
- Cooper T.W., Pass S.E., Brouse S.D., Hall Ii R.G. Can Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Principles Be Applied to the Treatment of Multidrug-Resistant *Acinetobacter*? *Ann Pharmacother.* 2011; 45(2): 229–40.
- Bergen P.J., Li J., Rayner C.R. et al. Colistin methanesulfonate is an inactive pro-drug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 1953–8.
- Gobin P., Lemaitre F., Marchand S. et al. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(5): 1941–8.
- Dotsikas Y., Markopoulou C.K., Koundourellis J.E. et al. Validation of novel LC-MS/MS method for the quantitation of colistin A and B in human plasma. *J. Sep. Sci.* 2011; 34: 37–45.

Поступила 14.04.14

Received 14.04.14

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616-078.33

Туполева Т.А., Тихомиров Д.С., Грумбкова Л.О., Игнатова Е.Н., Романова Т.Ю., Филатов Ф.П., Гаранжа Т.А.

КОНТАМИНАЦИЯ ПРИ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯХ: ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава РФ, Москва

Целью исследования было определение факторов риска получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов при ПЦР-анализе клинического материала. Источником ложноположительных результатов могут быть образцы с высокой вирусной нагрузкой. Контаминация нуклеиновыми кислотами (НК) может произойти на любом участке ПЦР-исследования. На основании полученных данных мы установили, что наиболее чувствительным этапом является выделение и очистка НК, особенно если она проводится в ручном режиме. Если в одной постановке в подавляющем большинстве образцов детектируется положительный сигнал, это указывает на тотальную контаминацию. Но особую сложность представляют такие случаи, когда загрязненными оказываются лишь несколько образцов. Если в одной постановке присутствуют образец с высокой концентрацией вирусной НК и несколько проб с низкой концентрацией, следует провести их повторный анализ, начиная с этапа выделения НК. Обязательным этапом ПЦР-исследования в режиме реального времени является анализ кривых накопления продуктов амплификации: их формы и расположения на графике. Эти действия позволят исключить выдачу в клинические подразделения ложно отрицательных результатов тестирования. Все сделанные в работе выводы равноценны для ПЦР-тестирования любых НК-мишеней.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция; контаминация; вирус гепатита В; вирус гепатита С.

Для корреспонденции:

Туполева Татьяна Алексеевна, канд. мед. наук, зав. науч.-клин. отд. вирусологической диагностики

Адрес: 125167, Москва, Новый Зыковский пр., 4

E-mail: ttupoleva@mail.ru

См продолжение на 39 стр.