

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

№ 1 (19)

2019

ИНФОРМАЦИОННО-РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	3
Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)	3
Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции	8
Загрядская Ю.Е., Обрядина А.П. Современные подходы к диагностике ранней и длительно текущей ВИЧ-инфекции	8
Загрядская Ю.Е., Обрядина А.П. Клинические аспекты лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции	12
Лабораторная диагностика сифилиса	16
Фисенко Н.С., Чепурченко Н.В. Серологическая диагностика сифилиса: возможности и перспективы	16
Лабораторная диагностика малярии	22
Кочина Е.А., Шальнова Е.Е. Современные возможности и проблемы диагностики малярии	22
Шальнова Е.Е., Кочина Е.А. Актуальные аспекты лабораторной диагностики малярии у беременных	26
Кочина Е.А., Шальнова Е.Е. Гемотранфузионная малярия: диагностические критерии и практические рекомендации	29
Вопросы качества лабораторных исследований	32
Нормативные документы	36

Учредитель: ООО Научно производственное объединение "Диагностические системы"

Главный редактор Шальнова Е.Е.

Адрес редакции

РОССИЯ, 603022, Н. Новгород, ул. Барминская, 8а

Тел./факс (831) 434-86-83, 467-82-18

E-mail: see@npods.ru; www.npods.ru

Зарегистрировано Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия

Регистрационное свидетельство ПИ №ФС 77-228449 от 30 декабря 2005 г.

Сдано в набор 26.08.2016

Подписано в печать 20.10.2016

Тираж 1500 экземпляров.

Отпечатано в ООО "Город искусств", 603016, Н. Новгород, ул. Веденяпина, д. 8А

Распространяется бесплатно. Коммерческое использование запрещено.

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бурков А.Н. (д.м.н., профессор),
Почетный член Редакционного совета

Обрядина А.П. (д.б.н.)

Пименов В.К. (к.б.н.)

Кувшинов М.В. (к.м.н.)

Шальнова Е.Е.

Голубева И.Ф.

Фисенко Н.С.

Поляков С.Ю.

Плаксина Н.Б.

Уважаемые читатели!

Обращаем ваше внимание, что информационно-реферативный журнал "Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний" с 2016 г. изменил форму подачи публикуемых материалов. Вместо отдельных тематических рефератов научных статей мы предлагаем вам ознакомиться с дайджестами научных публикаций и обзорами исследований зарубежных и отечественных авторов, посвященными актуальным теоретическим и практическим аспектам лабораторной диагностики заболеваний.

Представляем очередной выпуск нашего журнала.

Традиционно номер открывает общий раздел "Социально-эпидемиологическая и статистическая информация", в котором приведены статистические материалы о состоянии инфекционной и паразитарной заболеваемости населения Российской Федерации за период 2014-2015 гг. Особый акцент сделан на статистических показателях заболеваемости и пораженности ВИЧ-инфекцией в стране.

Раздел "Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции" включает два дайджеста. В одном из них представлены современные подходы к диагностике ранней и длительно текущей ВИЧ-инфекции, рассматриваются вопросы разработки и внедрения в практическое здравоохранение алгоритмов исследований с применением тест-систем, позволяющих дифференцировать раннюю и текущую ВИЧ-инфекцию. Показана польза применения этих исследований для определения средней продолжительности раннего периода инфицирования, оценки инцидентности данной инфекции, для проведения эпидемиологического расследования в очаге и организации эпидемиологического мониторинга за ВИЧ-инфекцией. Прикладные исследования определяют возможные пути использования молекулярных методов для проведения филогенетического анализа. Другой обзор публикаций освещает ряд клинических аспектов лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции и посвящен изучению распространенности резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам, изучению влияния ранней трансмиссии ВИЧ на связь антиретровирусной терапии и инцидентности ВИЧ-инфекции, решению вопросов о целесообразности применения антиретровирусной терапии. Отдельное внимание уделяется исследованиям по изучению клинико-эпидемиологических аспектов ранней диагностики ВИЧ-инфекции у детей первого года жизни и определению серологического статуса в супружеских парах, дискордантных в отношении ВИЧ/СПИДа.

В разделе "Лабораторная диагностика сифилиса" представлены научные публикации о возможностях и перспективах серологической диагностики различных

клинических форм данной инфекции. Нашли отражение актуальные тенденции в диагностике сифилиса - применение иммунохроматографических экспресс-тестов и использование реверсивного алгоритма лабораторных исследований для проведения скрининга на сифилис. Наряду с этим, ряд работ посвящен сравнительным исследованиям - анализу диагностических характеристик иммунохемилюминесцентного и иммуноферментного методов, анализу зарубежных и отечественных алгоритмов диагностики сифилиса, обсуждению особенностей, проблем и спорных аспектов существующих подходов к диагностике сифилиса. Небезынтересно, на наш взгляд, исследование, посвященное оценке современных тестов для диагностики нейросифилиса у пациентов с коинфекцией ВИЧ/сифилис и поиску предикторов развития данного заболевания. Рассмотрены также некоторые перспективные направления исследований, такие как поиск иммунодоминантных антигенов *T. pallidum* для создания высокочувствительных диагностикумов, разработка стратегии диагностики сифилиса при помощи "плазмонного" ИФА-теста.

В связи с возможной опасностью завоза малярии на территории субъектов Российской Федерации мы впервые поднимаем тему лабораторной диагностики этой инфекции на страницах нашего журнала. Материалы этого раздела посвящены современным возможностям и проблемам диагностики малярии в целом, а также актуальным аспектам ее диагностики у беременных женщин и поиску наиболее эффективных методов скрининга донорской крови с целью снижения риска развития трансфузионной малярии и обеспечения инфекционной безопасности донорской крови.

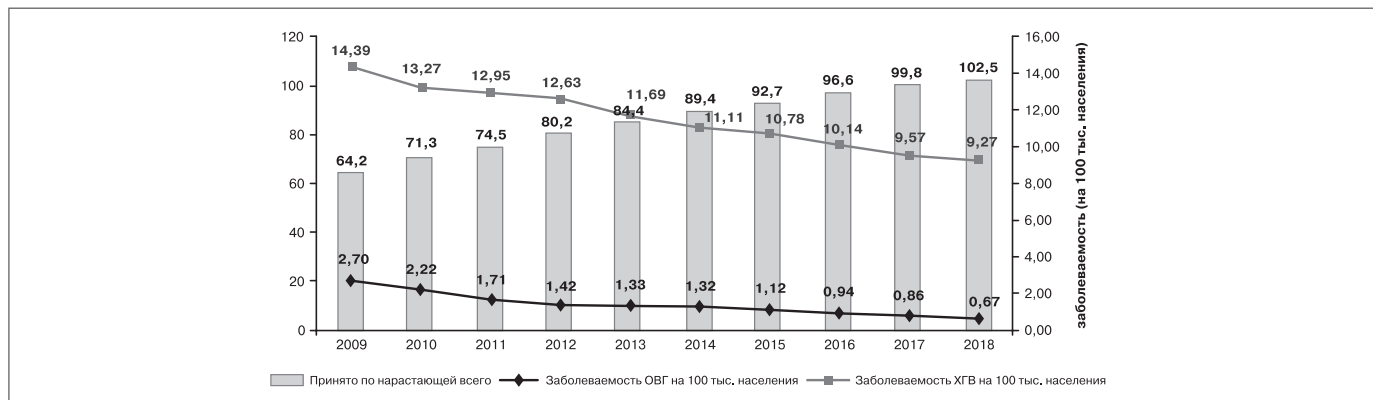
В рубрике журнала "Вопросы качества лабораторных исследований" публикуем выдержки из информационно-методического пособия "Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе", подготовленного силами сотрудников ООО "НПО "Диагностические системы". Основной акцент сделан на причинах ошибок при постановке ИФА и способах их устранения.

В разделе "Нормативные документы" приводим перечни основных, актуальных на текущий момент времени, нормативных правовых актов Российской Федерации в сфере лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции и малярии.

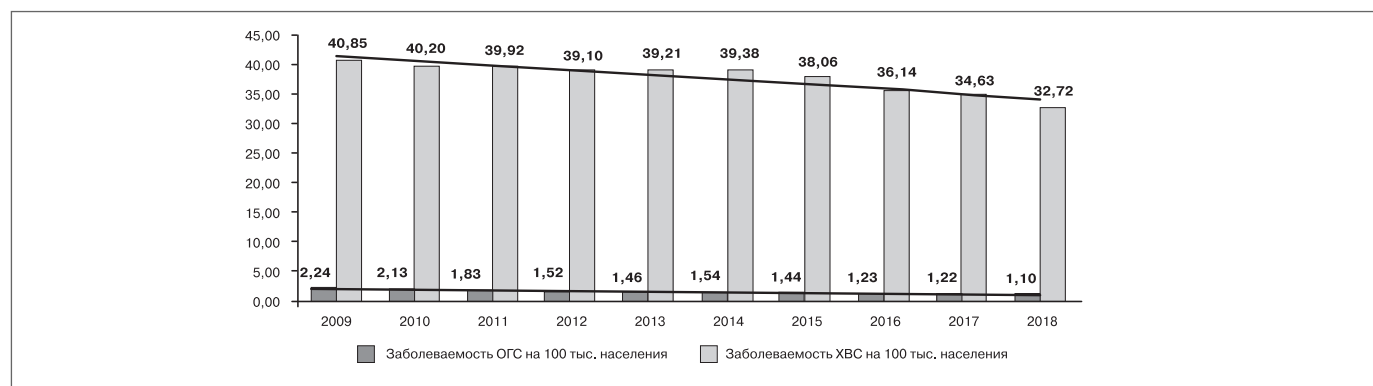
Надеемся, что опубликованные в нашем издании материалы будут полезны широкому кругу специалистов медико-биологического профиля, позволят им быть в курсе современных тенденций, новых научных разработок и достижений в лабораторной диагностике заболеваний человека и прикладной биотехнологии.

Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)

ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОСТРЫМ И ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В, НА 100 000 НАСЕЛЕНИЯ И ЧИСЛО ПРИВИТЫХ ПРОТИВ ГЕПАТИТА В ПО НАРАСТАЮЩЕЙ, МЛН ЧЕЛОВЕК ¹⁾



ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОСТРЫМ И ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С, НА 100 000 НАСЕЛЕНИЯ ¹⁾



СУБЪЕКТЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ С НАИБОЛЕЕ ВЫСОКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬЮ И ПОРАЖЕННОСТЬЮ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В 2018 ГОДУ ¹⁾

№ п/п	Субъекты Российской Федерации	Показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией	Тенденция 2008-2017 гг.	Показатель пораженности ВИЧ-инфекцией
	Российская Федерация	59,74		686,2
1.	Кемеровская область	181,32		1833,2
2.	Иркутская область	155,33		1812,6
3.	Новосибирская область	135,41		1186,4
4.	Пермский край	132,93		1108,9
5.	Красноярский край	116,83		1006,0
6.	Тюменская область	115,9		1196,3
7.	Оренбургская область	109,19		1383,4
8.	Курганская область	106,61		954,6
9.	Томская область	106,34		929,3
10.	Челябинская область	101,72		1259,1
11.	Омская область	98,4		806,4
12.	Самарская область	94,26		1452,8
13.	Свердловская область	86,34		1803,3
14.	Ханты-Мансийский АО	84,33		1296,5
15.	Ивановская область	79,6		821,4
16.	Ульяновская область	75,94		1033,6
17.	Алтайский край	74,52		961,1
18.	Ленинградская область	66,89		1208,2
19.	Республика Крым	59,33		1111,0
20.	Санкт-Петербург	54,39		949,3
21.	Московская область	54,18		687,6
22.	Мурманская область	49,76		732,7
23.	Тверская область	40,76		821,6

* *) Государственный доклад "О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году".

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральный центр гигиены и эпидемиологии

Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях*
(за январь—декабрь 2019 г., Российская Федерация)

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2018						Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2017						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Брюшной тиф	9	0,01	0	0,00	0	0,00	24	0,02	2	0,01	2	0,01				-2,7 раз	-2 сл.
Другие сальмонеллезные инфекции	33625	22,92	16994	58,01	16098	63,71	32308	22,07	16155	56,32	15388	62,33	3,9 %	3,0 %	2,2 %		
Бактериальная дизентерия (шигеллез)	7739	5,28	4149	14,16	3832	15,17	6651	4,54	3859	13,45	3619	14,66	16,1 %	5,3 %	3,5 %		
Острые кишечные инфекции, вызванные установленными бактериальными, вирусными возбудителями, а также пищевые токсикоинфекции установленной этиологии	262894	179,24	208240	710,86	203042	803,61	251523	171,80	201993	704,15	197364	799,43	4,3 %	1,0 %	0,5 %		
Острые кишечные инфекции, вызванные неустановленными инфекционными возбудителями, пищевые токсикоинфекции неустановленной этиологии	511597	348,80	314042	1072,03	295987	1171,47	511956	349,68	327316	1141,02	310240	1256,64	-0,3 %	-6,0 %	-6,8 %		
Острый паралимпический полиомиелит, включая ассоциированный с вакциной	0	0,00	0	0,00	0	0,00	6	0,00	6	0,02	6	0,02	-6 сл.	-6 сл.	-6 сл.		
Острые вялые параличи	251	0,17	251	0,86	248	0,98	305	0,21	305	1,06	302	1,22	-17,9 %	-19,4 %	-19,8 %		
Энтеровирусные инфекции	14441	9,85	13374	45,65	12944	51,23	23959	16,36	21722	75,72	21124	85,56	-39,8 %	-39,7 %	-40,1 %		
из них энтеровирусный менингит	3171	2,16	2785	9,51	2543	10,06	5018	3,43	4316	15,05	4041	16,37	-36,9 %	-36,8 %	-38,5 %		
Острые вирусные гепатиты всего	7132	4,86	1478	5,05	1295	5,13	11547	7,89	2206	7,69	1851	7,50	-38,3 %	-34,4 %	-31,6 %		
из них: острый гепатит А	4165	2,84	1355	4,63	1210	4,79	8076	5,52	2087	7,28	1760	7,13	-48,5 %	-36,4 %	-32,8 %		
острый гепатит В	993	0,68	16	0,05	12	0,05	1271	0,87	13	0,05	10	0,04	-22,0 %	3 сл.	2 сл.		
острый гепатит С	1624	1,11	68	0,23	48	0,19	1785	1,22	54	0,19	40	0,16	-9,2 %	23,3 %	8 сл.		
острый гепатит Е	157	0,11	9	0,03	4	0,02	158	0,11	16	0,06	13	0,05	-1 сл.	-7 сл.	-9 сл.		
Хронические вирусные гепатиты (впервые установленные)—всего	61866	42,18	510	1,74	355	1,41	65175	44,52	598	2,08	417	1,69	-5,3 %	-16,5 %	-16,8 %		
из них: хронический вирусный гепатит В	13615	9,28	83	0,28	46	0,18	14073	9,61	105	0,37	62	0,25	-3,4 %	-22,6 %	-27,5 %		
хронический вирусный гепатит С	48012	32,73	426	1,45	308	1,22	50777	34,68	487	1,70	349	1,41	-5,6 %	-14,3 %	-13,8 %		
Носительство возбудителя вирусного гепатита В	12877	8,78	103	0,35	67	0,27	14859	10,15	112	0,39	77	0,31	-13,5 %	-9 сл.	-15,0 %		
Дифтерия	3	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3 сл.				
Коклюш	10421	7,10	9951	33,97	9524	37,69	5415	3,70	5198	18,12	5027	20,36	1,9 раз	1,9 раз	1,9 раз		
Корь	2538	1,73	1414	4,83	1331	5,27	725	0,50	468	1,63	460	1,86	3,5 раз	3,0 раз	2,8 раз		
Краснуха	5	0,00	1	0,00	1	0,00	6	0,00	2	0,01	2	0,01	-1 сл.	-1 сл.	-1 сл.		
Паротит эпидемический	2036	1,39	889	3,03	687	2,72	4443	3,03	2114	7,37	1495	6,06	-2,2 раз	-2,4 раз	-2,2 раз		
Менингококковая инфекция	1027	0,70	676	2,31	633	2,51	859	0,59	609	2,12	576	2,33	19,3 %	8,7 %	7,4 %		
из нее генерализованные формы	752	0,51	479	1,64	444	1,76	683	0,47	501	1,75	473	1,92	9,9 %	-6,4 %	-8,3 %		
Ветряная оспа	837829	571,22	791002	2700,20	768762	3042,65	858612	586,46	812283	2831,61	791027	3204,09	-2,6 %	-4,6 %	-5,0 %		
Туляремия	71	0,05	16	0,05	14	0,06	168	0,11	33	0,12	21	0,09	-2,4 раз	-2,1 раз	-7 сл.		
Сибирская язва	3	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3 сл.				
Бруцеллез, впервые выявленный	291	0,20	22	0,08	19	0,08	313	0,21	23	0,08	16	0,06	-7,2 %	-1 сл.	3 сл.		

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2018						Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2017						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Вирусные лихорадки, передаваемые членистоногими и вирусные геморрагические лихорадки	6263	4,27	209	0,71	135	0,53	8595	5,87	316	1,10	190	0,77				-27,3 %	-35,2 %
из них: лихорадка Западного Нила	76	0,05	8	0,03	8	0,03	13	0,01	0	0,00	0	0,00	5,8 раз	8 сл.	8 сл.		
Крымская геморрагическая лихорадка	72	0,05	2	0,01	1	0,00	79	0,05	4	0,01	0	0,00	-7 сл.	-2 сл.	1 сл.		
геморрагическая лихорадка с почечным синдромом	5855	3,99	190	0,65	118	0,47	8298	5,67	305	1,06	185	0,75	-29,6 %	-39,0 %	-37,7 %		
Клещевой вирусный энцефалит	1721	1,17	205	0,70	175	0,69	1943	1,33	238	0,83	203	0,82	-11,6 %	-15,7 %	-15,8 %		
Клещевой боррелиоз (болезнь Лайма)	6481	4,42	658	2,25	593	2,35	6717	4,59	657	2,29	583	2,36	-3,7 %	1 сл.	-0,6 %		
Псевдотуберкулез	469	0,32	288	0,98	268	1,06	587	0,40	360	1,25	328	1,33	-20,2 %	-21,7 %	-20,2 %		
Лептоспироз	139	0,09	8	0,03	3	0,01	175	0,12	18	0,06	12	0,05	-20,7 %	-2,3 раз	-9 сл.		
Бешенство	2	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,00	0	0,00	0	0,00					
Укусы, ослюнения, оцарапывания животными	385166	262,61	119305	407,26	104301	412,81	379395	259,14	117741	410,44	103687	419,99	1,3 %	-0,8 %	-1,7 %		
Укусы клещами	521107	355,28	132398	451,96	117858	466,46	509262	347,84	128436	447,73	114707	464,63	2,1 %	0,9 %	0,4 %		
Риккетсиозы	1954	1,33	483	1,65	442	1,75	1984	1,36	537	1,87	513	2,08	-1,7 %	-11,9 %	-15,8 %		
из них: эпидемический сыпной тиф	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
болезнь Брилля	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
лихорадка Ку	112	0,08	10	0,03	6	0,02	148	0,10	8	0,03	5	0,02	-24,5 %	2 сл.	1 сл.		
сибирский клещевой тиф	1422	0,97	385	1,31	360	1,42	1561	1,07	465	1,62	449	1,82	-9,1 %	-18,9 %	-21,7 %		
астраханская пятнистая лихорадка	290	0,20	71	0,24	61	0,24	176	0,12	37	0,13	35	0,14	1,6 раз	1,9 раз	1,7 раз		
гранулоцитарный анаплазмоз человека	46	0,03	4	0,01	4	0,02	31	0,02	10	0,03	10	0,04	48,1 %	-6 сл.	-6 сл.		
моноцитарный эрлихиоз человека	12	0,01	3	0,01	2	0,01	19	0,01	12	0,04	12	0,05	-7 сл.	-9 сл.	-6,1 раз		
Педикулез	176781	120,53	56747	193,71	53345	211,13	190523	130,13	52873	184,31	49516	200,57	-7,4 %	5,1 %	5,3 %		
Туберкулез (впервые выявленный) активные формы	61544	41,96	2873	9,81	2106	8,34	66568	45,47	3293	11,48	2406	9,75	-7,7 %	-14,6 %	-14,5 %		
из него туберкулез органов дыхания	59546	40,60	2714	9,26	1971	7,80	64373	43,97	3086	10,76	2236	9,06	-7,7 %	-13,9 %	-13,9 %		
из него бациллярные формы	28252	19,26	257	0,88	101	0,40	29260	19,99	279	0,97	119	0,48	-3,6 %	-9,8 %	-17,1 %		
Сифилис (впервые выявленный)—все формы	23385	15,94	239	0,82	103	0,41	27439	18,74	345	1,20	121	0,49	-14,9 %	-32,2 %	-16,8 %		
Гонококковая инфекция	12522	8,54	350	1,19	29	0,11	15969	10,91	402	1,40	48	0,19	-21,7 %	-14,7 %	-41,0 %		
Болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и бессимптомный инфекционный статус, вызванный ВИЧ	86519	58,99	941	3,21	699	2,77	88615	60,53	1044	3,64	766	3,10	-2,5 %	-11,7 %	-10,8 %		
Острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации	3088968	21056,12	22085400	75391,66	20426631	80845,60	31825739	21738,00	23252125	81056,75	21593653	87466,08	-3,1 %	-7,0 %	-7,6 %		
Грипп	38838	26,48	20027	68,37	18456	73,05	51143	34,93	26938	93,91	24189	97,98	-24,2 %	-27,2 %	-25,4 %		
Пневмония (внебольничная)	721926	492,20	270453	923,23	246749	976,60	604878	413,15	216018	753,04	201474	816,08	19,1 %	22,6 %	19,7 %		
Малярия впервые выявленная	146	0,10	3	0,01	3	0,01	92	0,06	3	0,01	1	0,00	1,6 раз		2 сл.		
Трихинеллез	40	0,03	8	0,03	6	0,02	63	0,04	16	0,06	12	0,05	-36,6 %	-8 сл.	-6 сл.		
Поствакцинальные осложнения	256	0,17	230	0,79	230	0,91	338	0,23	246	0,86	245	0,99	-24,4 %	-8,4 %	-8,3 %		

* Используются материалы Роспотребнадзора РФ/ <http://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/>

Лабораторный скрининг донорской крови

Голубева И.Ф., Шальнова Е.Е., ...

Инфекционные риски и обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов.

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Актуальность проблемы

Обеспечение вирусной безопасности донорской крови и ее компонентов является одной из наиболее насущных задач трансфузионной медицины во всем мире. Важным этапом предотвращения передачи инфекций от доноров реципиентам являются скрининговые исследования донорской крови на маркеры ряда гемотрансмиссивных инфекций (ГТИ). Существование риска инфицирования определяется ограниченным перечнем декретированных маркеров и тестируемых ГТИ, наличием негативного окна, не позволяющим выявить "свежие" случаи инфицирования, скрытых форм заболевания (Туполева Т.А. и соавт., 2016). С кровью и ее компонентами может передаваться большинство инфекционных агентов, присутствующих в цельной крови. К их числу относятся различные возбудители инфекционных заболеваний - вирусы, бактерии, простейшие, прионы. Наиболее распространенными и опасными вирусными ГТИ считают ВИЧ-инфекцию и гепатиты В и С.

Эпидемиологическая ситуация

В эпидемиологическом плане представляют интерес данные как о распространенности и заболеваемости этими инфекциями как среди населения конкретного региона в целом, так и об их выявляемости в донорской популяции, поскольку донорский контингент формируется из числа представителей гражданского населения этого региона.

Так, по оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на конец 2017 г. в мире насчитывалось примерно 36,9 млн человек с ВИЧ-инфекцией, а 1,8 млн человек приобрели ВИЧ-инфекцию в 2017 г. В том же году 940 000 человек умерли от причин, связанных с ВИЧ-инфекцией [1].

ВОЗ информирует также, что инфекции, вызываемые вирусами гепатита В (ВГВ) и гепатита С (ВГС) признаются серьезными проблемами здравоохранения, требующими безотлагательных действий. Гепатит В и С - два основных типа из 5 разных вирусных гепатитов, которые являются причиной порядка 96% всех случаев смерти от гепатитов. По данным, представленным в "Глобальном докладе ВОЗ о гепатите, 2017 г." (WHO Global hepatitis report, 2017), предположительно 325 млн человек в мире живут с хронической инфекцией, вызванной вирусом гепатита В или ви-

русом гепатита С [2]. Отмечается, что подавляющее большинство этих людей не имеют доступа к необходимым исследованиям и лечению и находятся под угрозой медленного развития хронического процесса, цирроза или рака печени и смерти. В 2015 г. около 1,75 млн человек приобрели ВГС-инфекцию; общее число людей, живущих с гепатитом С, достигло 71 млн человек. Наряду с этим отмечено, что, несмотря на увеличение показателя смертности от гепатитов В и С в мире, число новых случаев ВГВ-инфекции уменьшается благодаря расширению охвата вакцинацией против ВГВ среди детей [2].

В соответствии с рекомендациями ВОЗ "Скрининг донорской крови на гемотрансмиссивные инфекции" (2009) все донации крови до их использования необходимо проверять на присутствие инфекций. Скрининг донорской крови и ее компонентов на маркеры ВИЧ-инфекции, гепатита В, гепатита С и сифилиса должен быть обязательным и его необходимо проводить в соответствии с требованиями системы контроля качества. Обеспечение достаточных запасов безопасной крови должно быть неотъемлемой частью национальной политики и инфраструктуры здравоохранения в каждой стране. Всю деятельность, связанную со сбором, тестированием, обработкой, хранением и распределением крови, необходимо координировать на национальном уровне в рамках эффективной организации и интегрированной сети банков крови [3].

По оценке ВОЗ, донорство крови 1% населения в целом является минимумом, необходимым для удовлетворения большей части основных потребностей страны в крови, эти требования являются более высокими в странах с хорошо развитыми системами здравоохранения. Ежегодно в мире собирается около 117,4 млн доз крови, 42% из них приходится на экономически развитые страны, где проживает 16% населения мира. Показатели кроводач в странах с высоким уровнем дохода составляют 36,8 на 1000 человек, в странах со средним уровнем - 11,7 донации, с низким уровнем дохода - 3,9 донации. Показатели распространенности передаваемых при переливании крови и ее компонентов ГТИ составляют в среднем для ВИЧ от 0,002 до 0,86%, для

ВГВ - от 0,02 до 3,64% и для ВГС - от 0,2 до 0,93%. Отмечается, что указанные показатели значительно ниже в странах с высоким уровнем экономического развития, чем в странах со средним и низким уровнем дохода [4].

Актуальные данные об эпидемиологической ситуации по ВИЧ-инфекции и гепатитам В и С в нашей стране представлены в государственном докладе "О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году", подготовленном Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).

Подчеркивается, что несмотря на то, что эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции в Российской Федерации (РФ) продолжает оставаться напряженной, в 2018 году, впервые за последние 14 лет, количество новых случаев ВИЧ-инфекции снизилось на 2,2% по сравнению с предыдущим годом. Показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией по итогам 2018 года составил 59,74 на 100 тыс. населения (2017 г. - 61,16). Показатель пораженности ВИЧ составил 686,2 на 100 тыс. населения России. Наиболее высокий уровень пораженности ВИЧ-инфекцией среди населения отмечен в возрастной группе 30-44 года. Обращается внимание на то, что ВИЧ-инфекция вышла за пределы уязвимых групп населения и активно распространяется в общей популяции. В 2018 г. зарегистрировано 19 случаев с подозрением на заражение в медицинских организациях при использовании нестерильного медицинского инструментария и 3 случая при переливании компонентов крови от доноров реципиентам [5].

Заболеваемость острыми формами парентеральных вирусных гепатитов в РФ продолжает снижаться. Так, в результате реализации программы массовой иммунизации населения РФ против гепатита В были достигнуты значительные успехи в борьбе с данной инфекцией. За последнее десятилетие (2009 - 2018 годы) заболеваемость острым гепатитом В (ОГВ) снизилась в 3,9 раза (с 2,70 до 0,67 на 100 тыс. населения в 2018 г.) С 2001 г. в РФ отмечается ежегодное снижение заболеваемости и острым гепатитом С (ОГС), с 2014 по 2018 г. снижение составило 1,4 раза, с 1,54 до 1,10 на 100 тыс. населения в 2018 г. [5].

Важно отметить, что, несмотря на снижение показателей заболеваемости ОГВ и ОГС, на территории РФ продолжают регистрироваться высокие уровни заболеваемости хроническими формами вирусных гепатитов (ХВГ). Всего в 2018 году зарегистрировано 61,9 тыс. случаев ХВГ (в 2017 г. - 65,1 тыс. сл., в 2016 г. - 68,1 тыс. сл.), снижение за год составило 4,9%. Показатели заболеваемости ХВГ резко отличаются по субъектам РФ (от 1,85 до 128,69 на 100 тыс. населения), что в определенной степени зависит от качества диагностики и полноты регистрации данной группы заболеваний [5].

В этиологической структуре впервые зарегистрированных случаев ХВГ преобладает хронический гепатит С (ХГС). С начала регистрации (1999 г.) до 2018 г. его доля возросла с 54,8% до 77,6% (в 2017 г. - 78,0%), при этом доля хронического гепатита В (ХГВ) снизилась с 38,0% в 1999 г. до 21,5% в 2018 г.

Наблюдается тенденция к снижению показателей заболеваемости ХВГ. Так, за последнее десятилетие с 2009 г. заболеваемость ХГС снизилась на 20,0% и составила в 2018 г. 32,72 на 100 тыс. населения (в 2017 г. - 34,63, в 2016 г. - 36,14). Заболеваемость ХГВ снизилась на 35,4% и

составила 9,27 на 100 тыс. населения (в 2017 г. - 9,57, в 2016 г. - 10,14).

Согласно данным Роспотребнадзора РФ ежегодно регистрируется около 2 тыс. сочетанных форм вирусных гепатитов. Более 70% из них составляют сочетанные формы ХГВ, ХГС и носительства ВГВ. Подчеркнуто, что интенсивность эпидемического процесса парентеральных вирусных гепатитов поддерживается преимущественно за счет заболеваемости хроническими их формами при медленных темпах снижения [5].

Широкое распространение ГТИ среди населения РФ и их преимущественно бессимптомное течение представляют большую эпидемиологическую опасность распространения, особенно среди доноров крови.

По данным управления организации службы крови Федерального медико-биологического агентства (ФМБА) России за 2018 г. общее количество доноров крови и ее компонентов в стране составило более 1 283 млн человек (в среднем по России - порядка 14 доноров на 1000 человек населения), при этом донорами выполнено более 2,5 млн донаций [6].

На современном этапе во многих крупных развитых странах мира, в число которых входит и Россия, разработана и реализуется регламентированная практика обеспечения безопасности донорской крови и ее компонентов, содержащая алгоритм последовательных действий по подбору, медицинскому освидетельствованию, анкетированию донорских кадров и обязательному лабораторному скринингу донорской крови на маркеры основных ГТИ до кроводачи. Особое внимание уделяется качеству лабораторных исследований, выявлению и поиску решений для устранения возможных проблем, которые могут возникнуть при использовании тех или иных лабораторных методов.

Методы лабораторного скрининга донорской крови

Благодаря усилиям многих отечественных и зарубежных исследователей за последние более чем три десятилетия были достигнуты значительные успехи в сфере лабораторной диагностики ГТИ, созданы специфические методы лабораторного скрининга донорской крови.

В настоящее время для скрининга донорской крови в рутинной лабораторной практике широко используются иммунологические методы (иммуноферментный анализ (ИФА), хемилюминесцентный иммунный анализ (ИХЛА), иммунный блоттинг (ИБ), реакции гемагглютинации и агглютинации частиц (РГА/РА), быстрые/простые тесты для экспресс-диагностики), предназначенные для детекции антител и антигенов возбудителей ГТИ, а также высокотехнологичные молекулярно-биологические методы, основанные на анализе нуклеиновых кислот (ДНК и/или РНК) патогенов - метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) и метод амплификации нуклеиновых кислот (НАТ-диагностика).

Научно-обоснованные данные, полученные при изучении антигенной структуры и особенностей организации генома возбудителей вирусных инфекций с учетом последних достижений иммунологии, иммунохимии и биотехнологии, привели к совершенствованию серологической лабораторной диагностики, улучшению качества диагностических тест-систем, повышению их чувствительности и специфичности. Наибольшее практическое распространение получили ИФА тест-системы 3-его (для выявления антител к рекомбинантным белкам возбудите-

лей) и 4-го поколения (для одновременного выявления антител к возбудителю и его антигенов), а также ИХЛА, ПЦР и NAT тесты. Введены алгоритмы выявления маркеров вирусных инфекций в донорской крови с учетом разделения скринингового и подтверждающего этапов серологического тестирования донорской крови, а также NAT-тестирование для обнаружения ВИЧ, ВГВ и ВГС во всех образцах, отобранных во время донации крови и ее компонентов, в качестве обязательных.

Благодаря использованию высокотехнологичных методов лабораторной диагностики удастся существенно повысить эффективность исследований и выявляемость инфекций на ранней стадии заболевания, тем самым обеспечивать максимально возможный уровень вирусной безопасности донорской крови.

Частота встречаемости ГТИ у доноров крови в России и за рубежом

У доноров крови в РФ, также как и в других государствах мира, при проведении лабораторных скрининговых исследований регистрируются случаи выявления маркеров ГТИ с разной частотой обнаружения.

Учитывая высокую распространенность ГТИ среди населения, российские исследователи постоянно изучают официальные общенациональные данные о частоте встречаемости ГТИ в донорской популяции и анализируют основные тенденции ее динамики для прогнозирования медицинских отводов от донорства.

В работе Хубутия М.Ш. и соавт. (2016) представлена информация о частоте выявления маркеров ГТИ у доноров крови РФ в динамике за 2007-2014 гг. (табл. 1) [7].

Таблица 1.

Динамика выявляемости ГТИ у доноров крови в РФ в 2007-2014 гг., % [7]

Инфекция	ВИЧ	ВГВ	ВГС	Источник
Год				
2007	0,07	0,90	1,60	Селиванов Е.А. и др., 2009
2008	0,08	0,08	1,30	
2009	0,09	0,60	1,20	Селиванов Е.А. и др., 2010
2010	0,20	0,60	1,10	Селиванов Е.А. и др., 2011
2011	0,10	0,60	1,00	Селиванов Е.А. и др., 2012
2012	0,11	0,47	0,77	Чечеткин А.В. и др., 2014
2013	0,10	0,41	0,79	
2014	0,10	0,34	0,81	Чечеткин А.В. и др., 2015

По данным ряда авторов (Селиванов Е.А. и др., 2011, 2012; Чечеткин А.В. и др., 2014-2017, Бубнова Л.Н., 2016), частота выявления маркеров ГТИ в 2011-2016 гг. в России составляла: 0,09-0,2% для маркеров ВИЧ-инфекции, 0,53-1,1% - маркеров ВГС, 0,26-0,6% - HBsAg, 0,39-0,7% - сифилиса.

Коллектив специалистов Российского НИИ гематологии и трансфузиологии (Данильченко В.В. и др., 2018), проанализировал основные показатели деятельности учреждений службы крови России, изложенные в форме отраслевой статистической отчетности № 39 "Сведения о заготовке и переработке крови и ее компонентов и препаратов" за 2017 год, и опубликовал полученные результаты. Из общего числа 1 321 794 доноров крови и ее компонентов доля доноров, отведенных от донорства вследствие выявления у них подтвержденных маркеров ГТИ, составила: ВИЧ-инфекции - 0,11%, поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) - 0,29%, антител к ВГС - 0,48%, маркеров возбудителя сифилиса - 0,34%. Авторы отметили, что показатели инфицированности среди первичных доноров существенно выше, чем среди регулярных доноров. В структуре группы отведенных доноров вследствие выявления маркеров ВИЧ-инфекции доля первичных доноров составила 45,4%; выявления HBsAg - 49,1%, антител к ВГС - 70,0%, маркерами возбудителя сифилиса - 63,0% [8].

Исследователи из ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр гематологии МЗ РФ (Туполева Т.А. и др., 2018) представили данные о частоте выявления инфекционных маркеров при исследовании 113867 образцов донорской крови и ее компонентов в динамике с 2010 по 2018 гг. Отмечена устойчивая тенденция к снижению частоты выявления маркеров ГТИ у доноров крови и ее компонентов, причем для некоторых инфекций снижение наблюдается более чем на порядок. Так маркеры ВИЧ-инфекции выявлялись менее чем в 1% случаев, а с 2013 г. отмечено значительное (в 10 раз) снижение частоты выявления анти-ВИЧ. Маркеры ВГВ и ВГС (HBsAg и анти-ВГС) в 2010 г. были причиной брака 0,6 и 1,4% компонентов крови, а в 2018 г. - только 0,06 и 0,12% соответственно. Антитела к возбудителю сифилиса в 2010 г. выявлены в 0,9% случаев, в 2013-2014 гг. - в 0,3%, а в 2018 г. - только в 0,04% [9].

Несмотря на общероссийские тенденции к уменьшению общей частоты выявления у доноров крови в нашей стране остаются высокими показатели выбраковки крови в результате выявления или получения сомнительных результатов на маркеры ГТИ. Так, в 2014 г. в структуре брака консервированной крови обнаружение HBsAg составило 3,64%, анти-ВГС - 8,90%, АТ/АГ ВИЧ - 1,18% среди других причин, в число которых входят сомнительные реакции на

ГТИ - 34,66% (Чечеткин А.В. и др., 2015). Значительный объем забракованной крови в результате получения сомнительных результатов связывают с применением недостаточно качественных тест-систем (Селиванов Е.А. и др., 2011). Только по ложноположительным результатам на ГТИ доля забракованной крови в РФ более чем в 2 раза превышает аналогичный показатель в США (Жибурт Е.Б. и др., 2010).

Проблема распространения ГТИ у доноров крови стоит достаточно остро не только в РФ, но и во многих зарубежных странах. В своей работе Хубутия М.Ш. и соавт. (2016) подчеркивают, что во всем мире данные об инфекциях у доноров принято рассчитывать на 100 000 человек. При этом учреждения службы крови зарубежных стран учитывают такие показатели как распространенность (превалентность, prevalence) - выявление инфекций у первичных доноров и встречаемость (инцидентность, incidence) - выявление заболеваний у регулярных доноров [7]. Авторы приводят данные отчета Европейского директората по качеству лекарственных средств и здравоохранению (EDQM) за 2011 г. о распространенности и встречаемости ГТИ у доноров крови в странах Европы (на 100 000 человек): данные показатели для ВИЧ-инфекции зафиксированы в диапазоне 2,49 - 54,39 и 0,45 - 16,61, соответственно; для гепатита В - 8,83 - 3224,29 и 0,25 - 64,57; для гепатита С - 7,75 - 1536,86 и 0,39 - 150,97, соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о более высокой частоте встречаемости ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов в донорской популяции у жителей стран Восточной и Южной Европы [7].

Совершенствование диагностических тест-систем (повышение их чувствительности, создание комбинированных ИФА тест-систем для одновременного выявления антигена и антител) способствуют более раннему выявлению инфекций.

Однако в мировой практике, в том числе и в России, встречаются случаи посттрансфузионного заражения реципиентов ГТИ при отрицательных результатах серологического тестирования. Так, например, в 2011 г. в США зарегистрировано 36 случаев передачи ВИЧ реципиенту [10], а в России за период 2002-2008 гг. зарегистрировано 7 случаев передачи ВИЧ при переливании крови [11], а за период 2014-2018 гг. - 15 случаев (в 2014 г. - 5 случаев, в 2015 г. - 4 случая, 2016 г. - 3 случая, 2018 г. - 3 случая) заражения ВИЧ-инфекцией при переливании компонентов крови от доноров реципиентам [12]. При этом наиболее частой причиной заражения реципиента становится низкая концентрация вируса в клетках крови донора - эритроцитах, тромбоцитах, - заготовленных в период "окна" [13].

Возможные причины отрицательных результатов скрининговых тестов

Существует несколько причин отрицательных результатов первичных скрининговых тестов, которые не исключают наличие инфекции, среди которых: период "серологического окна" на ранних стадиях ВИЧ, ВГВ, и ВГС-инфекций, вирусная гетерогенность (наличие вариантов, штаммов и субтипов вирусов, не детектируемых скрининговыми тестами), латентные (окультные) формы гепатитов В и С и проблемы их выявления, существование так называемых "ускользающих" мутантов (escape-mutants) ВГВ, хроническая иммунонегативность (или атипич-

ческая сероконверсия, при которой определяются низкие титры антител на поздних стадиях хронической инфекции) и другие.

Причинам невыявления ГТИ у доноров посвящены многочисленные исследования зарубежных и отечественных авторов. В настоящем дайджесте публикаций представлен ряд работ, касающихся наиболее актуальных проблем скрининга донорской крови на ГТИ.

1. Период "серологического окна"

Несмотря на существенный прогресс в развитии лабораторных методов исследования донорской крови на маркеры ГТИ остается риск передачи инфекций с переливаемыми гемоконпонентами из-за наличия периода "серологического окна".

1.1. Период "серологического окна" ВИЧ-инфекции

При проведении исследований на антитела к ВИЧ в период "серологического окна" получают ложноотрицательные результаты, их вероятность колеблется в пределах 0,001-0,3%, в зависимости от распространенности ВИЧ-инфекции в популяции [14]. Промежуток времени от момента инфицирования до обнаружения антител к ВИЧ методом ИФА составляет в среднем 3-4 недели, однако в некоторых случаях серонегативный период может затягиваться до 3-8 месяцев (Simon F. et al., 1998). В своей работе, посвященной анализу проблем лабораторного определения гемоконтактных инфекций, Улюкин И.М. и соавт. (2013) отмечают, что, несмотря на продолжительный серонегативный период, почти у всех инфицированных в течение 6 месяцев после заражения происходит сероконверсия, хотя у 3% пациентов с отрицательными результатами скринингового анализа на антитела к ВИЧ выявляется антиген р24 [15]. Кроме того, что большинство коммерческих тест-систем не способны обнаружить антитела к ВИЧ подтипа О, и на одна тест-система не выявляет антитела к подтипу N (Gautheret - Dejean A. et al., 2008) и что чаще всего ложноотрицательные результаты наблюдаются при ВИЧ-2-инфекции, для диагностики которой требуются специальные тест-системы. Вместе с тем, авторы подчеркивают, что использование на современном этапе более чувствительных ИФА-диагностикомов 4-го поколения, выявляющих не только антитела к ВИЧ, но и антиген р24, позволяет сократить период "серологического окна" на 8-10 дней по сравнению с тест-системами 3-го поколения (Padeh Y.C. et al., 2005) и обнаружить как ВИЧ-1, так и ВИЧ-2 [15].

1.2. Период "серологического окна" гепатита В

Основным скрининговым маркером гепатита В является поверхностный антиген вируса (HBsAg). Контроль донорской крови на наличие HBsAg является обязательным практически во всех странах мира. У доноров крови РФ в соответствии с нормативно-методическими документами при каждой донации проводят обязательное исследование крови на наличие HBsAg с использованием высокочувствительных диагностических тест-систем (рекомендуемая аналитическая чувствительность 0,01 - 0,1 МЕ/мл), определение уровня активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), а с июня 2019 г. - определение ДНК вируса при помощи молекулярно-биологических методов исследований (NAT) - [16, 17, 18].

В настоящее время лабораторная диагностика острой ВГВ-инфекции основывается на определении HBsAg и анти-HBc IgM, а также маркеров репликации вируса - HBeAg (за исключением лиц, инфицированных штаммами ВГВ с мутациями в области pre-C-гена) и дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) ВГВ в сыворотке крови. HBsAg в большинстве случаев обнаруживается уже в инкубационном периоде (через 3-5 недель от момента инфицирования), при остром течении гепатита выявляется в крови в течение 5-6 месяцев.

При этом может существовать короткий промежуток времени (от 1-2 недель до 2 месяцев) между исчезновением HBsAg и появлением антител к нему (анти-HBs) - так называемое "серологическое окно". По данным некоторых авторов продолжительность фазы "окна" может составлять 3-4 мес. с колебаниями до года. Присутствие HBsAg более 6 мес. рассматривают как фактор хронизации инфекции. Возможно пожизненное носительство HBsAg без клинических проявлений при латентной интегративной форме заболевания.

Несмотря на то, что для скринингового определения HBsAg в сыворотке крови используются высокочувствительные ИФА-тест-системы, имеют место случаи пост-трансфузионного гепатита В (Saraswat S., 1996; Satake M., 2007). Рутинные диагностикумы обладают различным потенциалом детекции HBsAg - не все ИФА тесты могут со 100%-й вероятностью выявить его у обследуемых лиц.

Ложноотрицательные результаты тестов на HBsAg могут быть обусловлены тем, концентрация HBsAg в сыворотке крови ниже 0,1 МЕ/мл (уровень определения), что может быть:

- в инкубационном периоде до появления клинических проявлений заболевания (период "серологического окна", время которого уровень HBsAg находится ниже предела детекции);
- на ранней стадии инфекции или перед прекращением циркуляции HBsAg в крови;
- при хронической инфекции;
- при наличии мутаций в вирусном геноме, которые вызывают изменение структуры антигенных эпитопов HBsAg (аминокислотные замены в антигенных детерминантах HBsAg способны значительно снижать связывание с ними антител, применяемых в тестах), а также снижение секреции вируса из клеток;
- при сочетанной инфекции ВГВ и ВГС или ВГВ и ВИЧ; ВИЧ и ВГС могут подавлять репликацию ВГВ;
- при неспособности используемых диагностических наборов выявлять некоторые субтипы HBsAg.

1.3. Период "серологического окна" гепатита С

Алгоритм скрининговых исследований донорской крови и ее компонентов на ВГС-инфекцию основывается на обнаружении в образцах сывороток или плазмы крови специфических маркеров вируса: антител к антигенам ВГС (анти-ВГС), относящихся к иммуноглобулинам классов G и M (IgG, IgM), а также нуклеиновой кислоты возбудителя (Ющук Н.Д. и др., 2010). Период "серологического окна", при котором не выявляются анти-ВГС, но присутствуют РНК ВГС и вирусные белки, составляет примерно 2 месяца [19]. С целью совершенствования лабораторной диагностики ВГС-инфекции были последовательно разработаны тест-системы 4-х поколений, позволяющие сокра-

тить время "серологического окна". Современные диагностикумы обладают достаточно высокой чувствительностью, специфичностью и простотой использования (Михайлов М.И., 2001; Шахгильдян И.В. и др., 2003; Чеканова Т.А. и др., 2007).

Однако, несмотря на совершенствование ИФА тест-систем для детекции анти-ВГС, существует проблема получения ложноотрицательных результатов, причины которых могут быть разными [20].

Во многом это может быть связано с тем, что наборы реагентов из-за высокой антигенной изменчивости вируса не всегда способны улавливать измененные паратопы антител, циркулирующих в крови инфицированного человека (Чеканова Т.А. и др., 2007; Москалев А.В. и др., 2009; Масалова О.В., 2011).

Также причиной может быть наличие у пациентов как острой инфекции в период "серологического окна", так и хронической - с отсутствием специфического антителообразования, например, на фоне иммуносупрессии у лиц с ВИЧ-инфекцией, после гемодиализа и трансплантации органов и т. д. (Strader D.B. et al., 2004; Рудой А.С. и др., 2009; Brun P. et al., 2010; Казаченко М.Г. и др., 2011). В своей работе Белякова В.В. (2014) ссылается на описание рядом авторов (Федоров Н.А. и др., 2004; Beld M. et al., 1999; Maple P.A. et al., 1994) случаев ВГС-инфекции с длительным периодом "серологического окна" при наличии в крови РНК ВГС, например, у доноров с иммуносупрессией или случаи отсутствия анти-ВГС у доноров с иммунодефицитными состояниями [21].

Кроме того, при развитии ОГС в условиях постоянно повышающейся концентрации антигена в результате репродукции вируса происходит активное снижение концентрации специфических антител за счет их включения в состав иммунных комплексов; гуморальный иммунитет подавляется в результате синтеза набора цитокинов, стимулирующих клеточное звено иммунной системы (Гараев М.М. и др. 2008). Так, наблюдается длительное "серологическое окно" от 3 до 6 месяцев, на протяжении которого тест является отрицательным, до тех пор, пока количество антител не достигнет детектируемого уровня (Siavoshian S. et al., 2004; Филатов Ф.П., 2007; Туполева Т.А., 2007). В этот период инфицированные лица являются потенциальными источниками ГС [20]. Все эти особенности необходимо учитывать и при проведении исследований донорской крови с использованием высокочувствительных диагностикумов.

Потапнев М.П. и соавт. (2013), акцентируют, что максимально сократить период "серологического" окна позволяют методы молекулярно-генетической диагностики (генодиагностики), при помощи которых можно обнаружить геном вируса в тот период, когда другими методами его обнаружить невозможно. Иммунный ответ организма на антиген развивается в среднем в течение месяца, а использование методов генодиагностики позволяет сократить период диагностического окна до 2-х недель (т.е. геном вируса обнаружен, а антитела к нему пока еще не синтезировались). С этой целью для исследования донорской крови применяют методы ПЦР и NAT для обнаружения нуклеиновых кислот вирусов [22].

2. Генетическая гетерогенность вирусов

Одной из причин, не позволяющих определить маркеры возбудителей ГТИ, является наличие в крови донора генетических вариантов вирусов, не выявляемых некоторыми

тест-системами. На современном этапе хорошо известно существование генетического многообразия этих вирусов, изучено и описано в работах зарубежных и российских исследователей его влияние на чувствительность серологических методов диагностики.

2.1. Генетическая гетерогенность ВИЧ

Рассматривая существующие проблемы лабораторного определения гемоконтактных инфекций в своем обзоре Улюкин И.М. и соавт. (2013) констатируют, что в настоящее время выделяют два типа ВИЧ: ВИЧ-1 и ВИЧ-2, аминокислотные последовательности которых гомологичны на 40-60%. Поэтому в 20-30% случаев, в зависимости от применяемой методики ИФА, у больных ВИЧ-2-инфекцией получают отрицательный результат серологического тестирования на ВИЧ-1 [15].

Группа ВИЧ-1 состоит из подтипов, обозначаемых буквами А, В, С, D, F, N, G, H, J, K, O, и 15 циркулирующих рекомбинантных форм (CRF). Большинство случаев ВИЧ-инфекции приходится на долю шести разновидностей ВИЧ-1 четырех подтипов (А, В, С, D) и двух циркулирующих рекомбинантных форм - CRF01_AE и CRF02_AG. В основном случаи ВИЧ-инфекции в мире вызваны ВИЧ-1, за исключением незначительного количества случаев, вызванных штаммами ВИЧ-2, происходящими из Западной Африки.

Авторы подчеркивают, что инфицирование ВИЧ-2 следует исключать в следующих случаях: у пациентов родом из стран Восточной Африки; у пациентов с неопределяемой вирусной нагрузкой (ВН - количество копий РНК вируса в 1 мл плазмы крови) при отсутствии антиретровирусной терапии (АРВТ); у пациентов, которые могли заразиться ВИЧ-2 по данным эпидемиологического анамнеза; у пациентов, у которых результаты ИБ на ВИЧ-1 отрицательны, сомнительны или атипичны. [15]

Однако в начале 2000-х годов влияние генетического многообразия на чувствительность серологической диагностики ВИЧ-инфекции было еще недостаточно изучено (Apreti S, 1996; Weber W, 2003). В связи с этим интерес представляют опубликованные данные исследований Weber W. (2006, США) [23]. Автор отмечает, что активное изучение чувствительности вновь разработанных тест-систем было осложнено невозможностью получения сероконверсионных образцов с ВИЧ-1 не В субтипов. В качестве замены сероконверсионных панелей для оценки чувствительности антиген-определяющей компоненты тест-систем 4-ого поколения использовали серии разведенных вирусных лизатов различных групп и субтипов (Weber W, 2002). Исследования трех случаев первичной инфекции ВИЧ-1 циркулирующей рекомбинантной формы A0 1_AE (ранее классифицированный как субтип E), продемонстрировали, что тест-системы 4-ого поколения по сравнению с тест-системами 3-его поколения сократили диагностическое окно в случае первичной инфекции ВИЧ-1 субтипа E. Самая чувствительная тест-система 4-ого поколения обнаружила инфекцию ВИЧ-1 на 11 дней раньше, чем 5 тест-систем 3-его поколения для определения антител. Параллельно результатам, зарегистрированным для коммерчески доступных сероконверсионных панелей на ВИЧ-1 субтипа В, системы с наиболее чувствительной антигенной компонентой демонстрировали наибольшее сокращение диагностического окна по сравнению с NAT-тестами на ВИЧ. Поскольку генетические отличия антигена

p24 между субтипами ВИЧ-1 незначительны, авторы предположили, что тест-системы 4-ого поколения с высокочувствительной антигенной компонентой улучшают раннюю диагностику ВИЧ-инфекции независимо от многообразия штаммов. Исследователями отмечено также, что эти тест-системы наилучшим образом проявили себя и при работе с сериями вирусных лизатов группы М, группы О и ВИЧ-2 (Weber W, 2003). Разница в чувствительности антигенной составляющей в отношении субтипов ВИЧ-1, которая наблюдалась в различных исследованиях (Weber W, 2002; Ly TD, 2001; Sickinger E, 2004), по мнению авторов, больше зависела от общего порога обнаружения, чем от генетического разнообразия штаммов ВИЧ-1 [23].

Позднее, в многочисленных исследованиях разных авторов было показано, что одна из сложностей диагностики инфекции заключается в чрезвычайно высокой вариабельности вируса иммунодефицита человека. Гетерогенность ВИЧ внутри одного субтипа составляет 8-17%, а между субтипами может достигать 42% [24], что естественно является причиной различий в антигенной структуре вируса, которые осложняют разработку диагностических тестов. Такая вариабельность может влиять на аналитическую чувствительность тестов, что было показано в ряде исследований (Gaudy C. at al., 2004; Ly T.D. at al., 2012; Qiu X. at al., 2017).

Так, Gaudy C. at al. (2004) описали случай инфекции, вызванной ВИЧ-1, не выявленной при помощи высокочувствительного комбинированного теста для одновременного определения антигена p24 и антител к вирусу. Обнаруженный штамм ВИЧ-1 был отнесен к субтипу В, характеризующемуся уникальной аминокислотной последовательностью в иммунодоминантном эпитопе трансмембранного гликопротеина gp41. Иммунохимический анализ показал, что наличие у штамма ВИЧ-1 данной последовательности не позволило детектировать антитела к ВИЧ [25].

В дальнейшем Ly T.D. at al. (2012) представили результаты исследования по оценке эффективности комбинированных антиген-антительных (АГ/АТ) ИФА-тестов на ВИЧ по выявлению АГ p24 у различных изолятов ВИЧ. Данное исследование проводили в связи с тем, что в 2010 году во Франции был опубликован нормативный документ по лабораторной диагностике ВИЧ-инфекции, регламентирующий использование тест-систем, предназначенных для одновременного обнаружения антител (АТ) к ВИЧ и антигена (АГ) p24, с пределом чувствительности по АГ p24 не ниже 2 МЕ/мл. Введение данной меры поставило вопрос о способности таких тестов одинаково выявлять все варианты ВИЧ.

Для оценки чувствительности 10 комбинированных тестов на ВИЧ при выявлении АГ p24 авторы использовали 2 эталонных стандарта (стандарт ВОЗ и национальный стандарт Франции), исследовали 297 образцов сыворотки крови, содержащих 99 изолятов вируса, полученных из культуры клеток ВИЧ-1 и ВИЧ-2, различных субтипов и групп, и 9 нативных образцов сыворотки крови от пациентов с первичной ВИЧ-инфекцией.

По результатам исследования предел обнаружения (limit of detection; LOD) тестами АГ p24 варьировал от 0,505 до 1,90 МЕ/мл и от 11,9 до 33,5 мкг/мл при использовании стандарта ВОЗ и национального стандарта Франции соответственно. Общий процент положительных образцов варьировал от 26,8 до 74,5%. Ни одна из пяти тест-систем не выявила образцы, содержащие по крайней мере 1 суб-

тип ВИЧ группы М, три тест-системы - образцы, содержащие ВИЧ группы О и шесть тест-систем - образцы, содержащие ВИЧ группы Р. Три теста смогли обнаружить 2-10 образцов (из 30), содержащих ВИЧ-2. Зарегистрирован большой разброс значений LOD для каждого изолята ВИЧ группы М по результатам разных тестов. Доля изолятов ВИЧ, обнаруженных при уровне АГ р24 менее 2 МЕ/мл, варьировала от 22 до 98,7%. Данное исследование продемонстрировало, что, несмотря на то, что аналитическая чувствительность тестов отвечает требованиям стандартов, многие из АГ/АТ-тестов на ВИЧ не могут выявить первичную инфекцию ВИЧ, вызванную штаммами ВИЧ-1 не-В и не-М субтипов и ВИЧ-2 [26].

Позднее, исследователи из США и Канады (Qiu X. et al., 2017) опубликовали результаты сравнительной оценки трех комбинированных тестов на АТ/АГ ВИЧ (ARCHITECT HIV Combo, производства Abbott; ADVIA Centaur HIV Combo, производства Siemens и BioPlex HIV Ag-Ab, производства Bio-Rad), одобренных Управлением за качеством продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA, США). Исследование проводили с использованием образцов сероконверсионных панелей генетического многообразия ВИЧ и диагностических образцов. Чувствительность и специфичность тестов оценивали с использованием панели 28 образцов сыворотки крови от пациентов, инфицированных распространенными штаммами ВИЧ и 17 изолятов культивируемых вирусов разных генотипов, 6 сероконверсионных панелей сывороток крови, 4 образцов сыворотки крови пациентов с острой инфекцией, международного стандарта ВОЗ на антиген р24 ВИЧ и 4020 клинических образцов.

Были получены следующие результаты: предел обнаружения (LOD) АГ р24 с использованием стандарта ВОЗ составил 0,19 МЕ/мл, 0,70 МЕ/мл и 1,77 МЕ/мл для тестов BioPlex, ARCHITECT и Centaur соответственно. Диапазон распределения LOD АГ р24 по 15 изолятам ВИЧ-1 был значительно меньше в тесте ARCHITECT (5-33 пг/мл), чем в BioPlex (11-198 пг/мл) и Centaur (6-384 пг/мл). При использовании всех тест-систем обнаружены антитела к большинству вариантов ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Однако при выявлении антител к ВИЧ-1 группы М (CRF02_AG), побочных групп О и N наблюдалась пониженная чувствительность у теста Centaur. Тесты BioPlex и ARCHITECT показали лучшую чувствительность при исследовании образцов сероконверсионной панели, чем тест Centaur, выявив ВИЧ в одном образце раньше (3-7 дней) в 4 (BioPlex) и 3 (ARCHITECT) из 6 сероконверсионных панелей. Тест ARCHITECT продемонстрировал более высокую специфичность (99,90-100%) по сравнению с тестами BioPlex (99,80%) и Centaur (99,42%).

Авторы пришли к выводу, что в целом тесты ARCHITECT и BioPlex показали более высокую эффективность, чем тест Centaur, особенно при выявлении первичной ВИЧ-инфекции в острой стадии.

Изучение генетической гетерогенности ВИЧ и возможностей идентификации разных субтипов вируса лабораторными методами активно проводится и в РФ.

Российские исследователи (Лаповок И.А. и соавт., 2017) подчеркивают, что в связи с продолжающимся нарастанием эпидемии ВИЧ в РФ регистрируется увеличение гетерогенности вирусной популяции, появляются новые уникальные формы вируса. Отметим, что в РФ существу-

ет ряд особенностей в отношении циркуляции вариантов ВИЧ-1 по сравнению со странами Западной Европы, Америки, Африки и Азии. ВИЧ-1 субтипа А, в настоящее время классифицируемый как субтип А6, в начале 2000-х годов был ответственен более чем за 90% новых случаев инфекции. До настоящего времени он распространен более чем среди 80% ВИЧ-инфицированных. Следующим по распространенности идет вирус субтипа В, который обнаруживается приблизительно у 8% больных. Реже встречаются субтипы G, C, D, рекомбинантные формы CRF01_AE, CRF02_AG, CRF06_crx, CRF11_crx, CRF63_02A1, а также АВ-рекомбинанты [27].

2.2. Генетическая гетерогенность ВГВ

Одним из ведущих аспектов проблемы гепатита В является генетическая вариабельность возбудителя, которая в ряде случаев обуславливает недостаточную эффективность серологической диагностики инфекции.

Генетическая вариабельность генома ВГВ позволяет развиваться различным генотипам, субгенотипам и серотипам вследствие эволюции генома вируса, на который оказывают влияние многообразные селективные факторы. На сегодняшний день выделяют 10 различных географически распространенных генотипов ВГВ, которые обозначаются латинскими буквами от А до J (Emekdas G. et al., 2002) и большое число субгенотипов ВГВ. В нуклеотидной последовательности полных геномов ВГВ различных генотипов отмечены различия не менее чем на 8%. Проведенные исследования генотипов А, В, С, D и F ВГВ способствовали определению внутри них ряда субгенотипов, неидентичность полных геномных последовательностей, которых составляет от 4 до 8%. Кроме того, в ряде работ (Wang Z. et al., 2005; Cui S. et al., 2012) показано, что при одновременной инфекции, вызванной вирусами гепатита В различных генотипов, могут образовываться рекомбинантные генотипы [28].

Для каждого генотипа характерны определенные географические и этнические особенности распространенности. Так, генотипы В и С преобладают в высокоэндемичных областях (в первую очередь, страны Азии), где перинатальная трансмиссия играет важную роль в распространении вируса, тогда как генотипы А, D, E, F, G (с преобладанием А и D) чаще выявляют в областях, где основным способом передачи ВГВ-инфекции является горизонтальный (Livingston S. E., 2007; Varcena Marugan R., Garcia Garzon S., 2009). В работе Герасимовой В.В. и соавт. (2015) проанализированы молекулярно-эпидемиологические особенности ГВ, описана современная классификация и приведены подробные сведения о распространенности различных генотипов ВГВ в различных регионах земного шара. Обобщенные данные о распространенности различных генотипов ВГВ в различных странах мира представлены в табл. 2 [28].

В РФ доминирующими являются генотипы D (около 90% случаев) и А (около 10% случаев), однако на разных территориях частота генотипов может различаться. В некоторых регионах РФ доля генотипа А может быть значительно выше, например, Республика Саха (Якутия) - до 50%, Кабардино-Балкарская Республика - более 30%. Генотип С является эндемичным для коренного населения Чукотского АО, где его доля достигает 25% [17].

Установлено, что острая инфекция, вызванная геноти-

Таблица 2.

Географическая распространенность генотипов вируса гепатита В [28]

Генотип ВГВ	Географическое распространение
A	США, Центральная Африка, Индия, Северо-Западная Европа, Россия
B1	Китай, Индонезия
B2	Вьетнам
C	Восточная Азия, Корея, Китай, Япония, Тайвань, Вьетнам, Полинезия, Австралия, США
D	Россия, Средиземноморье, Средний Восток, Индия, США
E	Западная Африка
F	США (редко), Центральная и Южная Америка, Полинезия
G	Европа, США (редко)
H	Центральная и Южная Америка
I	Вьетнам, Лаос
J	Япония

пами A и D ВГВ, приводит к более высокой частоте хронизации, чем вызванная генотипами B и C (Lin C.L. et al., 2011). У пациентов с генотипами C и D, в отличие от больных с генотипами A и B, наблюдаются более низкие показатели спонтанной сероконверсии (HBeAg в анти-HBe). Генотип C ВГВ имеет более высокую частоту мутаций в основном промоторе гена C (BCP) A1762T/G1764A и демонстрирует более высокую вирусную нагрузку, чем генотип B (Lin C.L. et al., 2011). Аналогичным образом, генотип D имеет более высокую распространенность мутации в области (BCP) A1762T/G1764A, чем генотип A. Эти наблюдения позволяют предположить наличие существенных различий в патогенезе инфекций, вызванных разными генотипами ВГВ. Например, генотипы C и D, могут способствовать более тяжелому течению заболеваний печени, в том числе формированию цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Кроме того, пациенты, инфицированные генотипами A и B, лучше отвечают на интерферонотерапию, чем пациенты с генотипами C и D (Lin C.L. et al., 2011). Следовательно, определение генотипа ВГВ имеет важное клинико-диагностическое значение [28]. Несмотря на то, что определение генотипа ВГВ пока не вошло в рутинную практику, оно становится все более доступным. В настоящее время в РФ уже имеются зарегистрированные диагностические тест-системы для генотипирования ВГВ на основе ПЦР в реальном времени.

В последнее время особое значение придается выявлению и изучению морфологии мутантных форм вируса, в том числе в свете обеспечения инфекционной безопасности донорской крови.

В своем исследовании Елпаева Е.А. и соавт. (2015) отмечают, что генетическая гетерогенность вирусной популяции в организме хозяина обусловлена двумя ключевыми факторами [29]. Первый из них связан с адаптацией вируса к организму хозяина и противостоянием иммунной системе организма. Например, показано, что нуклеотидные замены в preCore/Core и preS/S областях генома вируса гепатита В приводят к снижению уровня экспрессии вирусных белков HBeAg и HBsAg, что в свою очередь, приводит к невозможности определения этих белков сероло-

гическими методами (Tong S., 2005; Lin C.L., Kao J.H., 2015). Второй фактор связан с воздействием противовирусной терапии. Длительное лечение препаратами на основе аналогов нуклеозидов и нуклеотидов часто приводит к развитию лекарственной устойчивости за счет возникающих аминокислотных замен в области обратной транскриптазы полимеразного белка вируса (Gao S., 2015; Dandri M., Locarnini S., 2012). Из-за наличия в геноме ВГВ перекрывающихся открытых рамок считывания (ОРС) мутации в полимеразном гене могут изменять и свойства поверхностных белков. Мутации в S-гене вируса (PreS/S-мутации) изменяют антигенную структуру основной а-детерминанты HBsAg, что препятствует его выявлению в сыворотке крови доступными тест-системами (Pollicino T. et al., 2012). Кроме того, лекарственная резистентность HBsAg, что приводит к ускользанию мутантов от диагностических тестов и от антител, вызванных вакцинацией. Вместе с тем, увеличение длительности инфицирования способствует росту удельного веса мутантных штаммов, что приводит к снижению безопасности переливаемой крови. Поэтому наиболее чувствительным маркером является ДНК ВГВ [15].

Однако первичная диагностика ГВ традиционно строится на выявлении в сыворотке крови большого HBsAg, а не на определении ДНК ВГВ, что связано с существованием случаев выявления HBsAg при отрицательном результате теста на ДНК ВГВ. Действительно, продукция "пустых" частиц HBsAg на несколько порядков превышает продукцию зрелых вирионов, содержащих вирусную ДНК (Kao J., 2008). Но с внедрением чувствительных тестов для выявления ДНК ВГВ, позволяющих выявлять вирусную ДНК в концентрациях менее 1000 копий/мл, ситуация изменилась кардинальным образом. Стало очевидно, что существует значительное количество случаев ВГВ-инфекции, ускользающих от диагностики при тестировании на HBsAg, но сопровождающихся присутствием в крови вирусной ДНК. Данное явление, называемое скрытой ВГВ-инфекцией, особое значение имеет с точки зрения инфекционной безопасности донорской крови, поскольку скрининговое тестирование на ВГВ в службе крови строится на выявлении HBsAg [30].

2.3. Генетическая гетерогенность ВГС

Лабораторный скрининг донорской крови на маркеры вирусов гепатитов B и C стремительно развивается по пути применения новых и усовершенствования методов детекции маркеров инфицирования. Используются современные диагностикумы на основе ИФА и ИХЛА для определения антител к ВГС, разные варианты ПЦР для качественной и количественной детекции нуклеиновой кислоты РНК ВГС (ПЦР с обратной транскрипцией, ОТ-ПЦР и другие). Несмотря на достигнутый прогресс, сохраняется остаточный риск трансфузионного инфицирования ВГС, величина которого определяется продолжительностью периода "серологического" окна, напрямую зависящей от чувствительности лабораторных методов.

Одной из причин существования остаточного риска инфицирования является наличие в крови генетических вариантов вируса, не выявляемых некоторыми тестами. По данным ряда исследователей (Шустов А.В., 2003; Мукомолов С.Л., 2003; Suzuki T. et al., 2007; Pockros P.J., 2010;

Ильченко Л.Ю. и др., 2010), внедрение молекулярно-генетических методов исследования позволило выявить наиболее высокую генетическую гетерогенность ВГС по сравнению с другими возбудителями вирусных гепатитов.

В основу генотипической классификации ВГС положено изучение гетерогенности нуклеотидных последовательностей регионов core, E2, NS5 изолятов вируса, выделенных в разных территориях земного шара. Согласно современной классификации (Simmonds P. et al., 1998) выделяют 6 генотипов и более 100 субтипов вируса (обозначаются арабскими цифрами и прописными латинскими буквами в порядке их открытия 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 3a и т. д.) и множество квазивидов вируса - генетически близкородственных вариантов одного и того же изолята ВГС, которые возникают в результате мутаций в ходе репликации вируса в организме индивидуума [31]. Различия связаны с высокой скоростью мутаций вирусного генома и могут достигать 31-35%, по данным разных авторов (Новикова Н.А. и др., 2002; Чуланов В.П. и др., 2006). Различия нуклеотидной последовательности между субтипами могут составлять от 15 до 20%. Генетическая вариабельность квазивидов достигает 1-10% (Мукомолов С.Л., 2003; Шахгильдян И.В. и др., 2003; Чуланов В.П. и др., 2006).

В крупнейшей международной базе данных нуклеотидных последовательностей генома ВГС, собранных в Национальной лаборатории Лос-Аламос, США, представлены совокупные данные о географическом распространении вариантов вируса. Известно, что генотипы 1, 2, 3 распространены повсеместно, при этом тот или иной субтип доминирует в разных географических зонах. Наибольшее распространение в мире имеет 1b субтипа ВГС. В России распространены преимущественно субтипы 1b и 3a, на долю которых приходится более 85% всех регистрируемых вариантов вируса, встречаются также 1a и 2a (Львов Д.К., 1997; Самохвалов Е.И., 2013). Исследования, касающиеся формирования новых генетических вариантов вируса, единичны как в РФ, так и в мире. На сегодняшний день описаны несколько случаев рекомбинации между разными генотипами ВГС, наиболее известны 1a/1b и 2k/1b, последняя из которых зафиксирована в России (Colina R. et al., 2004; Legrand-Abravenel F. et al., 2007; Kurbanov F. et al., 2008). Известно, что различные генотипы вируса неодинаково влияют на особенности течения инфекционного процесса, эффективность лечения и, возможно на исход заболевания. Определение генотипа вируса имеет значение для доказательств пути передачи инфекции [20]. Имеются данные научных исследований о взаимосвязи отдельных генотипов ВГС с определенными путями его передачи. Считается, что субтип 3a коррелирует с внутривенным употреблением наркотических средств; 1b связывают с заражением через медицинские манипуляции, гемотрансфузии и гемодиализ; 2 генотип распространен среди лиц, инфицированных половым путем; 1a чаще выявляется у лиц с неустановленным путем передачи (Шустов А.В., 2003; Мартынюк Г.А. и др., 2004).

На современном этапе одним из важнейших аспектов обеспечения вирусной безопасности донорской крови и ее препаратов является повышение чувствительности используемых лабораторных тестов, направленное на сокращение периода "серологического окна".

В своей работе Михайлова Ю.М. и Быстрова Т.Н. (2014)

подчеркивают, что чувствительность и специфичность скрининговых тестов во многом зависит от используемых компонентов: антигенов и антител и отмечают, что в настоящее время постоянно ведутся исследования по разработке более эффективной подложки для коммерческих тест-систем, максимально учитывающей высокую изменчивость вируса [20].

Так, Астраханцевой И.В. и др. (2012) отмечено, что в ряде случаев сероконверсия анти-ВГС способна приводить к значительным изменениям в структуре популяции квазивидов вируса. Селективный отбор жизнеспособных мутантов ведет не только к ускользанию вируса от иммунного ответа организма, но и к формированию антител с измененными паротопами, которые не будут улавливаться в диагностических тестах. Поэтому вопрос о способности различных иммуноферментных тест-систем определять антитела с различными генотипами вируса требует пристального внимания. Поскольку все коммерческие тесты используют в качестве антигенов рекомбинантные белки или синтетические пептиды, созданные на основе полипротеиновой последовательности ВГС 1-го генотипа. Имеются данные, что антигены, полученные из NS3 области ВГС 1-го генотипа, в 5 раз более эффективно узнают антитела в сыворотках крови лиц, инфицированных ВГС 1-го генотипа, чем в клиническом материале от лиц, инфицированных вирусом 2-го или 3-его генотипов (Кудрявцева Е.Н. и др., 2007).

Несмотря на то, что определение антител является лишь косвенным методом для обнаружения ВГС, в службе крови на основании выявления анти-ВГС инфицированные доноры отбраковывают.

Одним из важных и проблемных моментов определения антител при помощи ИФА тест-систем на практике, являются неодинаковые результаты при использовании коммерческих тест-систем разных производителей. Результаты исследования проб, одинаково положительно реагирующих по отдельным неструктурным белкам вируса, интерпретируются по-разному. Сравнительное исследование с использованием коммерческих тест-систем отечественных и зарубежных производителей на панели сывороток крови доноров и лиц из групп риска инфицирования ВГС, показало, что доля несовпадающих результатов составляет 2,7-13,4%. Ряд исследователей (Рогозина Н.В. и др., 2004; Сенягина Н.Е., 2011; Быстрова Т.Н. и др., 2011) отмечают, что регистрация несовпадающих результатов ИФА может быть связана с использованием производителями диагностикомов собственных антигенов оригинальной конструкции в качестве иммуносорбента. Кроме того, имеются данные о том, что не все ИФА тест-системы одинаково эффективно определяют антитела к различным генотипам ВГС (Кудрявцева Е.Н. и др., 2007) [20].

Таким образом, в настоящее время постоянное повышение диагностической чувствительности и специфичности тестов для определения антител к ВГС должно являться одной из основных задач лабораторной диагностики данной инфекции, особенно среди доноров крови.

3. Окультные гепатиты В и С

Использование современных скрининговых методов позволило значительно улучшить диагностику гепатитов В и С. Однако наряду с клинически выраженными формами

этих гепатитов встречаются occultные инфекции, выявление которых имеет большое значение для обеспечения инфекционной безопасности донорской крови и ее компонентов.

3.1. Occultная ВГВ-инфекция

Существование occultной формы гепатита В, характеризующейся низкой концентрацией вируса в крови при недетектируемом уровне HBsAg или наличие так называемых "ускользающих" мутантов HBsAg являются причинами ложноотрицательных результатов исследований донорской крови на маркеры ВГВ-инфекции.

Ранее утверждалось, что исчезновение HBsAg у пациентов с ВГВ-инфекцией ассоциировано с прекращением виремии и ремиссией заболевания. Однако накопленный исследовательский материал свидетельствует, что ДНК вируса в низких концентрациях продолжает определяться в сыворотке крови и ткани печени у некоторых пациентов с недетектируемым уровнем HBsAg и при острой инфекции с самостоятельным разрешением, и при хронической инфекции или даже после успешно проведенного противовирусного лечения. Наличие данной клинической ситуации привело к возникновению концепции "occultной (occult), скрытой (silent), латентной (latent)" ВГВ-инфекции (ОкГВ), которая характеризуется наличием вируса при недетектируемом уровне HBsAg [32].

В 2008 году экспертами Европейской ассоциации по изучению болезней печени (EASL) было дано определение истинной ОкГВ - инфекции, согласно которому occultная форма ГВ характеризуется выявлением ДНК вируса в ткани печени при отсутствии детекции HBsAg в периферической крови. Установлено, что в редких случаях ДНК ВГВ может определяться и в крови, но в очень низкой концентрации (менее 200 МЕ/мл).

По профилю выявляемых антител было предложено различать серопозитивный ОкГВ (анти-HBc+ и/или анти-HBs+) и серонегативный ОкГВ (анти-HBc_ и анти-HBs_).

По мнению экспертов, истинный ОкГВ необходимо отличать от "ложного". При "ложном" ОкГВ репликация вируса не подавлена, о чем свидетельствует высокий уровень ДНК ВГВ в крови (более 200 МЕ/мл). Было отмечено, что HBsAg в крови не обнаруживается в связи с мутациями в S гене, кодирующем белки вирусной оболочки [33].

Определение истинного латентного гепатита В дают и Российские эксперты в области вирусологии (Ивашкин В.Т. и соавт., 2014) [17]. Согласно их описанию, существует вариант ВГВ-инфекции, когда HBsAg не обнаруживается, однако в плазме крови и/или ткани печени может выявляться ДНК ВГВ. Следует отметить, что об истинно латентной (или ОкГВ) инфекции можно говорить лишь в том случае, если HBsAg не обнаруживается при использовании современных высокочувствительных лабораторных методов (с чувствительностью не ниже 0,01 МЕ/мл). Часто при латентной инфекции в крови могут выявляться анти-HBc, а уровень виремии (если вирус обнаруживается в крови), как правило, низкий (менее 200 МЕ/мл) [17].

На протяжении нескольких последних десятилетий исследователи разных стран мира активно изучают различные аспекты проблемы ОкГВ-инфекции и регулярно проводят исследования, направленные на совершенствование уже известных и поиск новых, более эффективных методов ее диагностики.

Впервые наблюдение о данной форме ВГВ-инфекции было опубликовано более 40 лет назад при развитии посттрансфузионного гепатита В (ГВ) при переливании крови донора, содержащей анти-HBc [34].

С внедрением высокочувствительных методов, ОкГВ-инфекция выявлена в общей популяции; низкий уровень ДНК ВГВ выявляется в гепатоцитах больных гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК), в сыворотке крови доноров и их реципиентов, у больных, находящихся на гемодиализе, среди вакцинированных детей, при проведении пассивной иммунизации после трансплантации печени и при коинфекции вирусом гепатита С (ВГС) [35].

Данные о распространенности ОкГВ варьируют в зависимости от географического региона, специфичности и чувствительности рутинных серологических тестов и метода определения нуклеиновых кислот (NAT).

По данным Hollinger F.B. et al. (2008) в западных странах, таких как США, ОкГВ выявляется у 0,1-2,4% HBsAg-негативных, анти-HBc-позитивных (\pm анти-HBsAg) доноров крови [36]. Распространенность скрытой HBsAg-негативной инфекции среди доноров на территории РФ достигает 2% [37].

Исследования специалистов разных стран помогают установить как вирусологические, так и иммунологические аспекты ОкГВ-инфекции, способствующие более глубокому пониманию механизмов патогенеза данной формы ГВ, а также разработке новых эффективных и совершенствованию существующих диагностических средств для ее выявления.

Ранее, специалисты НПО "Диагностические системы" (Птицына Ю.С. и соавт., 2017) проанализировали и обобщили результаты выборочных исследований по данной проблематике и опубликовали данные в информационно-реферативном журнале компании [38]. Материалы не потеряли своей актуальности и в настоящее время. Приводим основные выдержки из этой публикации.

3.1.1. Вирусологические и иммунологические аспекты occultного гепатита В

А. Длительная персистенция кольцевой ДНК вируса в ядрах гепатоцитов

Интересные факты по данной теме приведены в обзоре Morales-Romero J. et al. (2014). Возможно, особенности жизненного цикла ВГВ могут раскрыть причины формирования ОкГВ. Хотя конкретные механизмы, опосредующие формирование ОкГВ, до конца неясны, установлено, что для носителей ОкГВ характерна продолжительная персистенция ковалентно-замкнутой кольцевой ДНК вируса (cccDNA) в ядрах гепатоцитов. Ковалентно-замкнутая кольцевая ДНК является промежуточной репликативной формой вирусной ДНК. Она очень стабильна, сохраняется в клеточном ядре в виде эписомальной ДНК и служит матрицей для транскрипции генов. Такие факторы, как стабильность и длительная персистенция cccDNA в ядрах гепатоцитов, а также высокая продолжительность жизни клеток печени способствуют сохранению инфекции до конца жизни человека [39].

Б. Интеграция вирусного генома в хромосому хозяина

Согласно наблюдениям Brechot C. et al. (2010) интеграция последовательностей ДНК ВГВ в геном хозяина часто встречается у пациентов с хронической формой инфекции

и больных ГЦК. Однако в процессе интеграции часть генетической информации может быть утрачена. Результатом этого может быть отсутствие HBsAg в сыворотке крови, снижение продукции вирионов, недетектируемый уровень вирусной ДНК в сыворотке крови. Возможно, что интеграция вирусной ДНК является ключевым механизмом, лежащим в основе формирования оккультного гепатита после нескольких лет хронической инфекции [40].

В. Генетические мутации

Изучение механизмов возникновения ОкГВ-инфекции поддерживающих низкий, но стабильный уровень репликации вируса, позволило исследователям выявить наличие мутаций вируса в S-регионе. Мутации в преS/S регионе могут вызывать изменения антигенных свойств HBsAg и подавление продукции анти-HBs. С некоторыми типами мутаций в этом регионе может быть ассоциировано возникновение ОкГВ-инфекции (Shi Y.H. , 2012).

По мнению Samal J. et al. (2012) мутации генома ВГВ, а именно точечные мутации в "а" детерминанте HBsAg; мутации, позволяющие вирусу избежать воздействия медикаментозной терапии; сплайсинг; а также мутации в pre-S регионе напрямую связаны с развитием ОкГВ.

Мутации ВГВ, в результате которых вирус не распознается иммунной системой и которые позволяют ему ускользнуть от вакцин-индуцированного ответа, происходят в "а" детерминанте главного гидрофильного региона (МНР) HBsAg. В настоящее время хорошо известно, что наиболее часто встречающаяся замена G145R позволяет HBsAg уходить от иммунного распознавания, образуются так называемые "ускользающие" мутанты ВГВ (escape-mutants). Однако влияние этой мутации на структуру и иммунореактивность HBsAg изучено мало.

Результаты своего экспериментального исследования опубликовала группа авторов из Ирана (Rezaee R. et al., 2016). Авторами была предсказана и смоделирована трехмерная (3D) структура HBsAg дикого и мутантного типа (HBsAg G145R). После проведения количественного анализа исследователи изучали влияние мутации G145R на вторичную и трехмерную структуру HBsAg. В ходе исследования было установлено, что мутация G145R приводит к конформационным изменениям антигенных петель HBsAg, что вызывает значительное снижение иммунореактивности HBsAg. В результате этой мутации происходит формирование новой β -спирали в области "а" детерминанты HBsAg, что приводит к снижению аффинности связывания моноклональных антител, МКА12 с HBsAg. Мутация G145R также повышает компактность и стабильность HBsAg за счет увеличения прочности "а" детерминанты. Исследователи отмечают, что полученные результаты могут быть полезны для разработки более совершенных методов детекции антител к HBsAg, а также и для создания более эффективных вакцин против ГВ [41].

Г. Особенности иммунного ответа организма хозяина при ОкГВ

Иммунный ответ хозяина непосредственно влияет на исход заражения ВГВ (освобождение организма от вирусной инфекции, вирусную персистенцию и иммунопатогенез). Так, например, Martin С.М. et al. (2009) сравнивали профили экспрессии цитокинов сыворотки у ВИЧ-инфицированных пациентов с ХГВ и с ОкГВ-инфекцией [24]. Более низкие уровни растворимого Fas (sFas) были обнаружены при ОкГВ-инфекции. Известно, что система эк-

спрессии Fas контролирует апоптоз инфицированных гепатоцитов, а также играет ключевую роль в удалении старых гепатоцитов и поддержании нормального гомеостаза печени. Авторы проведенного исследования утверждают, что обнаружение более низких уровней sFas указывает на снижение апоптотического ингибирования и может быть одной из причин снижения скорости репликации вируса при ОкГВ-инфекции.

Некоторые особенности ВГВ-специфического клеточного иммунного ответа были описаны при ОкГВ. Так, по данным Hollinger F.V. et al.(2010), для анти-HBscore (+) больных ОкГВ характерен типичный Т-клеточный иммунный ответ с участием Т-клеток памяти, напротив, ВГВ-специфический Т-клеточный ответ не наблюдался у пациентов с анти-HBscore(-).

3.1.2. Диагностика оккультного гепатита В

В настоящее время ОкГВ-инфекция остается потенциальной угрозой безопасности донорской крови. Поэтому значительное количество современных научных работ в разных странах посвящено различным аспектам выявления ОкГВ при исследовании донорской крови.

В плане перспектив усовершенствования диагностики ОкГВ определенный интерес представляет аналитическая работа Allain J.P. (2004) из Кембриджского университета (Великобритания) о неблагоприятных последствиях гемотрансфузий из-за наличия у доноров ОкГВ.

Автор работы отмечает, что остаточный риск трансфузионного инфицирования для ВГВ выше, чем для ВГС и ВИЧ. Несмотря на то, что при проведении скрининга крови на наличие HBsAg большинство инфицированных доноров отбраковывается, существуют доказательства в пользу того, что при переливании HBsAg-негативной крови и ее компонентов возможно заражение ВГВ, в частности, в период "серонегативного окна" и на поздних стадиях ОГВ. Присутствие ДНК вируса в сыворотке крови доноров с недетектируемым уровнем HBsAg при наличии или отсутствии антител к ВГВ, соответствует ОкГВ. Частота выявления ОкГВ зависит от чувствительности методов исследования, используемых для определения HBsAg и ДНК ВГВ. Она также зависит от распространенности ВГВ-инфекции среди населения. При ОкГВ после выздоровления могут определяться антитела к HBsAg (анти-HBs) и регистрироваться постоянный низкий уровень виремии, "ускользающие" HBsAg-мутанты, или здоровое носительство антител к е-антигену (анти-HBe) и ядерному антигену вируса (анти-HBc). В дальнейшем, концентрация анти-HBe, а позднее и анти-HBc падает до недетектируемого уровня. Автор констатирует, что все вышеописанные варианты регистрируются в основном у иммунокомпрометированных лиц, например, у реципиентов органов или костного мозга. Описаны факты отсутствия признаков инфекции у иммунокомпетентных реципиентов, получавших компоненты донорской крови, содержащие анти-HBs (даже в низком титре), но отсутствуют доказательства, что анти-HBs являются маркером инфекции. Присутствие только анти-HBc или анти-HBc с ДНК ВГВ может быть связано с инфицированием крови, но иногда ДНК ВГВ может детектироваться при отсутствии каких-либо серологических маркеров ВГВ.

В заключение Allain J.P. приходит к выводу, что внедрение технологии амплификации нуклеиновых кислот (NAT)

ВГВ позволяет выявлять ОкГВ обычно при вирусной нагрузке < 500 МЕ/мл, однако этот метод оказался неприемлемым для тестирования пулов плазмы. Использование методов обогащения генома, по мнению автора, позволит значительно повысить чувствительность NAT и улучшить качество тестов [42].

Согласно информации, представленной в обзоре Said Z.N. (2011), определение ДНК ВГВ в биоптатах печени - наиболее точный способ диагностики ОкГВ. Однако зачастую не представляется возможным получить биоптат от пациента. Следует отметить, что методика оценки ДНК ВГВ в тканях печени еще недостаточно стандартизирована и не получила одобрения со стороны FDA (США). Метод амплификации ДНК ВГВ является "золотым стандартом" среди методов выявления ОкГВ. Анализ ДНК, экстрагированной из тканей печени или плазмы крови, следует проводить с помощью ПЦР в реальном времени или методом гнездовой ПЦР. Ложнопозитивных результатов исследования можно избежать, если использовать ПЦР праймеры, которые охватывают не менее трех участков генома вируса (S, X и core гены). Детекция ОкГВ требует использования методов анализа с наиболее высокой чувствительностью и специфичностью. Лимит детекции ДНК ВГВ должен быть менее 10 МЕ/мл. Чувствительность тестов, используемых для выявления HBsAg в крови, должна быть менее 0,1 нг/мл [43].

Японские исследователи из группы Yoshikawa A. (2007) опубликовали результаты тестирования образцов крови 17 млн доноров. Они обнаружили 328 ДНК ВГВ-положительных образцов. У 26 доноров была исследована динамика вирусных маркеров при развитии острой ВГВ-инфекции. Из 26 обследованных доноров 6 были инфицированы мутантными формами ВГВ. За весь период наблюдения у 3 из 6 доноров так и не был выявлен детектируемый уровень HBsAg, несмотря на умеренно высокую вирусную нагрузку ДНК ВГВ от 104 до 105 копий/мл. На основании полученных данных авторы сделали вывод о том, что методы амплификации ДНК ВГВ, даже если их использовать для оценки минипулов, более эффективны, нежели оценка HBsAg, и позволяют исключить инфицированных доноров [44].

В работе отечественных авторов Еремеевой Ж.Г. и Фазылова В.Х. (2017) проанализированы данные 61 155 доноров Республиканского центра крови (Республика Татарстан, г. Казань), полученные в 2010-2014 гг. Анализировали результаты исследования образцов сывороток крови на HBsAg, суммарные антитела к ядерному антигену (anti-HBc-total), иммуноглобулины класса М к ядерному антигену (anti-HBc IgM) (при помощи ИФА) и ДНК вируса в крови (при помощи ПЦР в "реальном времени"). Установлено, что доноры с ОкГВ выявляются ежегодно, хотя и отмечена тенденция к снижению их числа. Для предотвращения распространения вируса в популяции авторы предлагают ввести в стандарт диагностики ВГВ-инфекции определение маркера anti-HBc-total [45].

Российские специалисты из Санкт-Петербурга (Улюкин И.М. и соавт., 2015), констатируют, что выявление латентной формы болезни у пациентов с anti-HBc в сыворотке крови ставит вопрос о целесообразности обследования доноров не только на HBsAg, но и на anti-HBc с отведением anti-HBc-положительных лиц от донорства, особенно донорства органов [37].

Кроме того, поскольку вирусная нагрузка у больных с

изолированными "анти-HBc Ig" крайне мала, существует потенциальный риск необнаружения ДНК ВГВ при ПЦР-исследовании пула образцов донорской крови, и скрининг на anti-HBc может способствовать уменьшению остаточного риска. Так как уровень инфицированности ВГВ у больных с множественными трансфузиями достоверно выше, чем у доноров крови, и при этом основным маркером инфицированности является именно anti-HBc, введение теста на этот маркер представляется актуальным для селекции доноров. Изучение ОкГВ-инфекции затруднено необходимостью исследования молекулярно-биологическими методами биоптатов печени "благополучных" HBsAg-негативных пациентов, у которых отсутствуют показания к биопсии печени. Считается, что для верификации ОкГВ достаточно информативны специфические серологические ИФА тесты на суммарные anti-HBc (total) (встречаемость в 100,0% случаев) и anti-HBe (встречаемость в 93,3% случаев). Выявление случаев возникновения ВГВ после переливания "серонегативной" по HBsAg крови свидетельствует о необходимости внедрения в практическое здравоохранение методов детекции антигена, обладающих более высокой чувствительностью с сохранением высокой специфичности. Повышение чувствительности тест-систем для выявления HBsAg и расширение спектра мутаций, выявляемых с их помощью, будет способствовать улучшению выявляемости случаев скрытой формы ВГВ-инфекции, что представляется существенным для изменения социальной структуры доноров и мотивации донорства [45].

3.2. Оккультная ВГС-инфекция

В настоящее время выявлена новая форма инфекции, вызываемой ВГС, получившая название оккультного (скрытого, латентного) гепатита С. Важность выявления оккультной ВГС-инфекции (ОкВГС - инфекции) определяется возможностью передачи вируса при гемотрансфузиях от доноров с не диагностированной инфекцией.

Первое определение ОкВГС - инфекции включало обнаружение РНК ВГС в сыворотке крови при отсутствии серологических маркеров инфицирования. В дальнейшем, при интенсивном изучении данной формы инфекции представление о ней изменилось [46].

Впервые скрытая форма инфекции было описана Castillo I. и соавт. в 2004 г., когда у лиц с гепатитом неустановленной этиологии в ткани печени и мононуклеарах периферической крови при помощи ОТ-ПЦР с последующим подтверждением гибридизацией in situ была обнаружена РНК ВГС. При этом в сыворотках крови пациентов отсутствовали как anti-ВГС (что было подтверждено результатами двух независимых ИФА тестов), так и РНК ВГС (Castillo I. et al., 2004).

Истинная частота ОкВГС - инфекции в популяции не ясна, однако среди больных с поражением печени неясной этиологии может достигать 57-87%. Группами риска выявления латентной ВГС-инфекции являются больные криптогенным гепатитом, эссенциальной смешанной криоглобулинемией II типа, ГЦК и больные на гемодиализе.

Поскольку в настоящее время скрининговая стратегия определения anti-ВГС не позволяет выявить латентные формы инфекции, для ее диагностики необходимо применение высокочувствительных методов ПЦР и специальных методик обработки биологического материала, в частно-

сти ультрацентрифугирования сыворотки крови для концентрации вирусных частиц. В настоящее время "золотым стандартом" диагностики ОкрВГС-инфекции является обнаружение РНК вируса в биоптате печени. Проводится поиск и других, не инвазивных и надежных методов диагностики, перспективным является выявление РНК ВГС в мононуклеарах периферической крови. Основным доказательством репликации вируса в мононуклеарных клетках периферической крови служит обнаружение минус-цепи РНК и накопление вирусных белков в цитоплазме (Parm T.N. et al., 2010; Масалова О.В., 2011). Результаты исследований разных авторов (Castillo I. et al., 2009; Castillo I., Bartolome J. et al., 2011; Parm T.N. et al., 2012) по выявлению РНК ВГС в мононуклеарах периферической крови варьируют в широких пределах: от 24 до 97% случаев скрытого гепатита С (отрицательных результатов тестирования образцов сыворотки крови на наличие анти-ВГС и РНК ВГС) [47].

На современном этапе выделяют две формы ОкрВГС-инфекции:

- 1) выявление РНК ВГС в ткани печени у больных хроническим заболеванием печени неустановленной этиологии в отсутствие анти-ВГС и РНК ВГС в сыворотке крови;
- 2) определение РНК ВГС в ткани печени у больных со спонтанным разрешением острой инфекции или элиминацией РНК ВГС из сыворотки крови в результате противовирусной терапии при сохраняющихся в сыворотке крови анти-ВГС [46].

Таким образом, дальнейшее изучение ОкрВГС-инфекции, использование современных серологических и молекулярно-генетических методов исследования для раннего выявления активной, скрытой и перенесенной ВГС-инфекции окажется полезным для обеспечения вирусной безопасности донорской крови и ее компонентов.

Остаточный риск инфицирования при переливании донорской крови и ее компонентов

Достигнутые успехи в области лабораторной диагностики ГТИ позволяют обеспечивать достаточно высокий уровень вирусной безопасности донорской крови и ее компонентов, о чем может свидетельствовать сокращение остаточного (резидуального) риска гемотрансфузионного инфицирования (ОРИ). Остаточные риски трансфузионного инфицирования (после всех регламентированных мер профилактики) ВГВ, ВГС и ВИЧ являются основными объективными количественными показателями вирусной безопасности службы крови [49].

Опубликованы многочисленные работы исследователей из разных стран мира, посвященные расчету и сопоставительному анализу данного показателя. Для расчета риска передачи инфекции от донора реципиенту учитывают такие показатели как превалентность (распространенность) и инцидентность (встречаемость) инфекций. Остаточный риск передачи ГТИ рассчитывают как произведение продолжительности серонегативного периода инфекции и встречаемости (инцидентности) (Schreiber G.B. et al., 1996).

Первые научные работы по расчету риска передачи с кровью таких вирусов как ВИЧ, ВГС и Т-лимфотропный вирус человека 1 типа, были проведены американскими исследователями (Holland P. 1999; Ramsey G., Sherman

L.A., 1999; Schreiber G.B. et al., 1996) в конце 1990-х гг. XX века. В этот период, еще до широкого внедрения в повседневную практику молекулярно-биологических методов исследования, ОРИ в ряде европейских стран (по данным Roger P.M. et al., 1997, Нидерланды) составлял для ВГВ - 6,92 (1,15-40,8), для ВГС - 15,0 (0,62 - 36,9) и ВИЧ - 0,58 (0,00 - 1,27) на 1 млн кроводач.

С внедрением в 1999 г. молекулярных методов в США (Stramer S.L., 2007), ОРИ существенно снизился и составил 1 на 2 млн донаций для ВИЧ и ВГС. Для ВГВ ОРИ составлял 1 на 200 тыс. - 500 тыс. донаций (по результатам исследований на HBsAg и анти-HBc, поскольку NAT - технологии в тот период еще не получили широкого распространения для диагностики ВГВ-инфекции). По данным Dorsey K.A. et al., 2012) риск гемотрансмиссивной передачи ВИЧ-инфекции в США составил 1 на 1,5 млн доз гемоконпонентов из-за 9-ти дневного окна между инфицированием и выявлением РНК ВИЧ в пуле. Рассчитали остаточный риск передачи инфекции при трансфузии крови первичных доноров в США, он составил: ВИЧ - 1,25, ВГС - 7,47 на 1 млн донаций.

Не меньший интерес представляют результаты исследований французских авторов (Pillonel J., Laperche S. et al., 2002, 2004, 2005), продемонстрировавшие как изменялись показатели ОРИ в стране в периоды 1998-2000 гг. и 2000-2002 гг. до внедрения NAT: для ВИЧ ОРИ изменился с 1/1 0370 000 до 1/1 400 000, для ВГС - с 1/860 000 до 1/1 000 000, для ВГВ - с 1/ 470 000 до 1/400 000. В дальнейшем, после введения молекулярно-биологических методов исследования в период 2001 - 2003 гг., авторы отметили снижение уровня ОРИ, который для ВИЧ составил 1/1400 000, для ВГС - 1/1 000 000 и для ВГВ - 1/400 000 [48].

В Канаде в 2001-2005 гг. остаточный риск передачи ВИЧ при переливании крови составил 1 на 7,8 млн донаций, ВГС и ВГВ - 1 соответственно на 2,3 и 153 тыс. донаций (O`Brein S.F. et al., 2007). В дальнейшем, в 2006-2009 гг. этот риск сократился: ВИЧ- до 1 на 8 млн донаций, ВГС и ВГВ - до соответственно 1 на 6,7 и 1,7 млн донаций (O`Brein S.F. et al., 2012). Авторы использовали периоды окна: ВИЧ - 9,5 дня, ВГС - 8 дней, ВГВ - 38,3 дня.

Таким образом, успешное внедрение NAT-технологий в развитых странах при исследовании донорской крови на ВИЧ, ВГВ и ВГС сократило остаточный риск трансфузионного инфицирования в среднем до 1 на 50 000 - 1 000 000 донаций.

В своей научной работе Туполева Т.А. (2019) приводит результаты исследований ряда отечественных авторов, посвященные проблеме остаточного риска трансфузионного инфицирования, полученные в разные периоды времени. Так, по данным Голосовой Т.В. и др. (2000), на основании анализа данных инфицированности вирусными агентами доноров крови за 4 года (1996-1999 гг.) в России было выявлено, что на каждые 100 кроводач приходится 1 случай возможной передачи ВГВ или ВГС. По данным исследований более позднего времени (Куликов С.А. и др., 2011) оценки остаточных рисков трансфузионного инфицирования ВГС, рассчитанные на основе анализа данных скринингового обследования доноров крови, мониторинга реципиентов множественных трансфузий и контрольного тестирования плазмы крови для производства препаратов составляют 940, 1600 и 630 на 1 млн кроводач, трансфузий и единиц плазмы соответственно [47].

Данные о риске трансфузионного инфицирования в РФ в 2012 г. приведены в статье Губановой М.Н. и соавт. (2015). Авторы использовали период окна, принятый для скрининга серологических маркеров, поскольку на тот период использование NAT-технологий не являлось обяза-

тельным (не было официально регламентировано нормативными документами) [50]. По результатам национального наблюдения за 186 685 регулярными донорами установлен риск трансфузионного инфицирования в России (табл. 3).

Таблица 2.

Риск трансфузионного инфицирования в России в 2012 г. [50]

Вирус	Период окна, дн.	Встречаемость	Риск трансфузионного инфицирования на 1 млн донаций
ВИЧ	20,3	290,64	16,2
ВГВ	59	208,32	33,7
ВГС	58,3	608,16	97,1

Работы Беляковой В.В. (2014), Гармаевой Т.Ц. (2012), Губановой М.Н. и др. (2014) свидетельствуют, что в России этот показатель значительно выше, чем в США: для ВИЧ, ГВ и ВГС - в 80,35 и 61 раз, соответственно. Отмечено, что в службе крови РФ до 2013 г. использование молекулярных методов было ограничено и носило рекомендательный характер. Только с введением санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.31.12-13 "Профилактика вирусного гепатита С" (от 22.10.2013 г.) стало обязательным исследование донорской крови и ее компонентов на наличие анти-ВГС IgG и РНК ВГС при каждой донации [47].

В дополнение необходимо отметить, что в 2019 г. вступили в силу новые правила заготовки крови, которые предусматривают обязательное использование молекулярно-биологических методов (NAT) для обнаружения нуклеиновых кислот ВИЧ, ВГВ и ВГС во всех образцах, отобранных во время донации крови и ее компонентов (Постановление Правительства РФ от 22.06.2019 №797 "Об утверждении правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов...") [18].

Однако, несмотря на широкое внедрение в службе крови развитых стран NAT-технологий при обследовании доноров крови на ГТИ, случаи ВИЧ-, ВГВ- и ВГС-инфекций продолжают регистрироваться. Причины - возможная недостаточная чувствительность и низкая специфичность NAT. В разных странах исследуют как единичные, так и пулированные образцы. В любом случае существует риск низкой, ниже предела обнаружения, концентрации вируса. Также возможна мутация, редкий генотип вируса, в отношении которого праймер, используемый в данном наборе реагентов с использованием NAT, неспецифичен [51].

Меры для обеспечения безопасности переливания крови
Безопасность переливания крови обеспечивается комплексом мероприятий:

- отбор доноров;
- лабораторное обследование донорской крови;
- приготовление компонентов крови;
- инаktivация патогенов;
- рациональное применение крови.

В этом ряду возрастает эффективность и значимость

технологий инаktivации патогенов [51]. Современные технологии инаktivации патогенов в плазме крови включают использование: а) растворителя-детергента - при промышленном фракционировании, б) метиленового синего и видимого света - при подготовке отдельных доз для переливания, в) амтосалена и ультрафиолетового света с длиной волны А - используют при инаktivации аферезных доз плазмы объемом не более 650 мл либо пулированных доз плазмы, полученной из цельной крови [52].

Таким образом, данные современных прикладных научных исследований в области лабораторной диагностики ГТИ подчеркивают важность дальнейшего совершенствования существующих и создания новых высокочувствительных и специфичных диагностикомов, использования комплексных аналитических подходов к скринингу донорской крови, оптимизации алгоритмов тестирования, повышения надежности и достоверности результатов скрининговых тестов для обеспечения высокого (гарантированного) качества и инфекционной безопасности донорской крови и ее компонентов.

ЛИТЕРАТУРА.

1. ВИЧ/СПИД. Информационный бюллетень ВОЗ от 19 июля 2018 г. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
2. ВОЗ. Глобальный доклад по гепатиту, 2017 на англ. яз. - Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255016/9789241565455-eng.pdf?sequence=1>
3. ВОЗ. Скрининг донорской крови на гемотрансмиссивные инфекции: рекомендации, 2010 на русск. яз. - 91 с. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44202/9789244547885_rus.pdf?sequence=8
4. Безопасность крови и ее наличие. Информационный бюллетень ВОЗ от 29 мая 2019 г. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/blood-safety-and-availability>
5. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Государственный доклад "О состоянии санитарно-эпидемиологи-

ческого благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году", с.123-5, 136-8. Available at: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyu-doklad-o-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf

6. ИТАР-ТАСС. Почти все доноры в России сдают кровь бесплатно. Российская газета. 22.04.19. https://yadonor.ru/about/news/index.php?id_4=9915

7. Хубутя М.Ш., Солонин С.А., Кобзева Е.Н., Годков М.А. Гемоконтактные вирусные инфекции у доноров крови, потенциальных доноров органов и тканей. Трансплантология. 2016; 2:45-57

8. Данильченко В. В., Четкин А. В., Григорьян М. Ш., Воробей Л. Г., Плоцкий Р. А. Особенности структуры доноров, отведенных от донации крови и ее компонентов, по маркерам гемотрансмиссивных инфекций в 2017 году. Вестник гематологии. 2018; XIV(4):24.

9. Туполева Т. А., Тихомиров Д. С., Гуляева А. А., Овчинникова Е. Н., Гапонова Т. В. Гемотрансмиссивные инфекции у доноров крови. Вестник гематологии. 2018; XIV(4):49-50.

10. Жибурт Е.Б., Мадзаев С.З., Зарубин М.В. Развитие службы крови США. Гематология и трансфузиология. 2014; 59(3): 49-54

11. Селиванов Е.А., Данилова Т.Н., Дегтярева И.Н., Григорьян Т.Ш. Обеспечение инфекционной безопасности гемотрансфузий в Российской Федерации. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2009; 1(1):62-7

12. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Государственные доклады "О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации" за 2014, 2015, 2016, 2017, 2018 гг. Available at: <https://www.rospotrebnadzor.ru/>

13. Жибурт Е.Б. "Черный тюльпан" превратился в махровый - Медицинская газета №18 от 11 мая 2018:11.

14. Taylor D., Durigon M., Davis H., Archibald C., Konrad B., Coombs D. et al. Probability of a false-negative HIV antibody test result during the window period: a tool for pre- and post-test counselling. Int J STD AIDS. 2015 Mar;26(4):215-24

15. Улюкин И.М., Буланьков Ю.И., Болехан В.Н., Апчел А.В., Орлова Е.С., Лебедева Н.Г. Проблемы лабораторного определения гемоконтактных инфекций. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2013; 3(43):1-8

16. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.02.2008 г. №14 "Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.1.2341-08 "Профилактика вирусного гепатита В" (вместе с СП 3.1.1.2341-08 "Профилактика вирусного гепатита В")

17. Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д., Маевская М.В., Знойко О.О., Дудина К.Р., Кареткина Г.Н. и др. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом В, утв. Минздравом РФ 06.08.2014 г. М.; 2014

18. Постановление Правительства РФ от 22.06.2019 №797 "Об утверждении правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и признании утратившими силу некоторых актов Правительства РФ"

19. Михайлов М.И., Кюрегян К.К., Малинникова Е.Ю. Возможности диагностики гепатита С с помощью выявления антигена вируса гепатита С. Инфекционные болезни:

новости, мнения, обучение. 2017; 6:42-52

20. Михайлова Ю.В., Быстрова Т.Н. Иммунологические и молекулярно-генетические методы в эпидемиологическом надзоре за гепатит С-инфекцией (аналитический обзор). Медиаль. 2014; 2(12): 103-21

21. Белякова В.В. Совершенствование лабораторного тестирования для обеспечения вирусной безопасности аллогенных гемокомпонентов. Дисс. ... канд. биол. наук. М.; 2014

22. Потапнев М.П., Еремин В.Ф. Инфекционная безопасность донорской крови: проблемы и решения. Гематология и трансфузиология. 2013; 58 (3): 49-56

23. Weber. B. Screening of HIV infection: role of molecular and immunological assays. Expert Rev Mol Diagn, 2006; 6(3): 399-411

24. Hemelaar J. Implications of HIV diversity for the HIV-1 pandemic. J Infect, 2013. 66 (5): 391-400

25. Gaudy C., Moreau A., Brunet S., Descamps J.M., Deleplanque P., Brand D., Barin F. Subtype B human immunodeficiency virus (HIV) type 1 mutant that escapes detection in a fourth-generation immunoassay for HIV infection. J Clin Microbiol. 2004 Jun; 42(6):2847-9

26. Ly T.D., Plantier J.C., Leballais L., Gonzalo S., Lem?e V., Laperche S. The variable sensitivity of HIV Ag/Ab combination assays in the detection of p24Ag according to genotype could compromise the diagnosis of early HIV infection. J Clin Virol. 2012 Oct; 55(2):121-7

27. Лаповок И.А., Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в России в 1987-2015 гг. - Терапевтический архив - 2017, 11(87): 44-9

28. Герасимова В.В., Левакова И.А., Бичурин М.А., Максимова Н.Р. Молекулярно-эпидемиологические особенности вирусного гепатита В. Инфекция и иммунитет. 2015. 5(4): 297-302

29. Елаева Е.А., Никитина О.Е., Писарева М.М., Шилова И.В., Грешнякова В.А., Грудинин М.П., Киселев О.И. Генетические варианты вируса гепатита В у пациентов с хроническим гепатитом В. Журнал инфектологии. 2015; 7(3):44-50

30. Кюрегян К.К., Дьяррасуба А., Михайлов М.И. Лабораторная диагностика вирусных гепатитов. Инфекционные болезни: новости, мнение, обучение. 2015. 2: 26-36

31. Быстрова Т.Н., Михайлова Ю.В. Молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита С (аналитический обзор). Медиаль. 2014; 2(12):88-102

32. Hu K.Q. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. J Viral Hepat. 2002 Jul; 9(4):243-57

33. Raimondo G., Allain J.P., Brunetto M.R., Buendia M.A., Chen D.S., Colombo M. et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. J Hepatol. 2008 Oct; 49(4):652-7

34. Tabor E., Hoofnagle J.H., Smallwood L.A., Drucker JA, Pineda-Tamondong G.C., Ni L.Y. et al. Studies of donors who transmit posttransfusion hepatitis. Transfusion. 1979 Nov-Dec; 19 (6): 725-31

35. Лопаткина Т.Н. Латентная инфекция, вызванная вирусами гепатита В и С. Клиническая гепатология. 2009; 2: 3-8

36. Hollinger F.B. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. Transfusion. 2008; 48:1001-26

37. Кюрегян К.К. Молекулярно-биологические основы

контроля вирусных гепатитов: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.; 2012

38. Птицына Ю.С., Обрядина А.П., Шальнова Е.Е. Научные и практические аспекты лабораторной диагностики оккультного гепатита В. *Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний*. 2017; 1(17):17-23

39. Morales-Romero J., Vargas G., Garc?a-Rom?n. R. Occult HBV infection: a faceless enemy in liver cancer development viruses. *Viruses*. 2014 Apr; 6 (4): 1590-611

40. Brechot C., Kremsdorf D., Soussan P. Hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC): molecular mechanisms and novel paradigms. *Pathol.Biol. (Paris)*. 2010 Aug; 58 (4):278 - 87

41. Rezaee R., Poorebrahim M., Najafi S., Sadeghi S., Pourdast A., Alavian S.M. et al. Impacts of the G145R mutation on the structure and immunogenic activity of the hepatitis B surface antigen: a computational analysis. *Hepat Mon*. 2016 Jun 28; 16(7):e39097

42. Allain J.P. Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. *Vox Sang*. 2004 Feb; 86(2):83-91

43. Said Z.N. An overview of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 2011 Apr; 17(15): 1927-38

44. Yoshikawa A., Gotanda Y., Minegishi K., Taira R., Hino S., Tadokoro K. et al. Lengths of hepatitis B viremia and antigenemia in blood donors: preliminary evidence of occult (hepatitis B surface antigen-negative) infection in the acute stage. *Transfusion*. 2007 Jul; 47(7): 1162-71

45. Еремеева Ж.Г., Фазылов В.Х. Выявление оккультного гепатита при тестировании донорской крови. *Вестник РГМУ*. 2017(1): 66-9

46. Кожанова Т.В. Современная диагностика гепатита С и интерпретация результатов выявления маркеров инфицирования. *Медицинский совет*. 2013; 10:27-31

47. Туполева Т.А. Стратегия повышения вирусной безопасности компонентов донорской крови. Дисс. ... докт. мед. наук. М.;2019

48. Pillonel J., Le Marrec N., Girault A., David D., Laperche S. Epidemiological surveillance of blood donors and residual risk of blood-borne infections in France, 2001 to 2003. *Transfus Clin Biol*. 2005 Jul; 12(3):239-46

49. Полунина Н.В., Губанова М.Н., Жибурт Е.Б. Передачи инфекций при переливании крови. *Российский медицинский журнал*. 2016; 22(6):284-6

50. Губанова М.Н., Мадзаев С.Р., Жибурт Е.Б. Распространенность и встречаемость инфекций у доноров крови в России. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(6): 29-31

51. Жибурт Е.Б. Обязательный NAT-скрининг донорской крови: возможности и проблемы. *Справочник заведующего КДЛ*. 2019; 1: 5-11

52. Губанова М. Н., Чемоданов И. Г., Гайворонская В.В., Аюпова Р. Ф., Кожемяко О. В., Аверьянов Е. Г. и др. Инактивация патогенов в клеточных компонентах крови. *Трансфузиология*. 2017; 3(18)6 15-36

Лабораторная диагностика

Михайлова Ю.В., Обрядина А.П.

Риск гемотрансмиссивной передачи инфекции, вызываемой вирусом гепатита E

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Важнейшей составляющей частью процесса обеспечения инфекционной безопасности гемотрансфузий является скрининг донорской крови на гемотрансмиссивные инфекции (ГТИ), который проводится для исключения донаций крови с риском передачи инфекции от донора реципиенту. Кроме классических инфекций, передающихся при переливании крови, появляются сообщения о гемотрансмиссивной передаче новых патогенов.

Инфекция, вызванная вирусом гепатита E (ВГЕ, HEV), является самой распространенной причиной острого вирусного гепатита во всем мире, способна вызывать хронический гепатит с внепеченочными проявлениями. До недавнего времени считали, что ВГЕ, в первую очередь, является ответственным за эпидемии острого гепатита в развивающихся странах, эндемичных по гепатиту E (ГЕ), из-за загрязнения питьевой воды фекалиями больного человека. На неэндемичных территориях преобладали спорадические завозные случаи ГЕ, регистрируемые у лиц, вернувшихся из эндемичных регионов. В настоящее время установлено, что ГЕ является эндемичным заболеванием для ряда стран Европейского союза (ЕС), таких как Австрия, Дания и Нидерланды [1-3]. В данных странах инфекция вызывается ВГЕ 3 генотипа, имеющего зоонозное происхождение (Adlhocha C., 2016). Наряду с этим, все чаще регистрируются случаи передачи вируса парентеральным путем при переливании крови и ее препаратов, трансплантации органов и тканей от донора к реципиенту с развитием хронического гепатита у лиц с ослабленным иммунитетом (Niederhauser C., 2018; Tripathy A.S., 2019; Reynolds C., 2019). Впервые о передаче ВГЕ при переливании крови известно с 2004 г. по сообщениям исследователей из Европы и Японии (Matsubayashi K., 2008; Tisehurst J.R., 2019). Возможность парентеральной передачи ГЕ обусловлена длительным периодом виремии.

Риск и опасность передачи гемотрансфузионного ГЕ с зараженными продуктами крови в настоящее время является спорной и обсуждаемой темой в трансфузиологии. В ряде стран серьезно рассматривают вопрос о скрининге на маркеры ГЕ всех донаций или только тех, которые

предназначены реципиентам повышенного риска инфицирования. Россию традиционно относят к неэндемичным по ГЕ территориям. Статистическое наблюдение за ГЕ начато только с 2013 г., когда инфекция вошла в перечень болезней, подлежащих обязательной регистрации. За период 2013-2019 гг. были опубликованы результаты единичных исследований по оценке интенсивности циркуляции ВГЕ в донорской популяции отдельных регионов страны, риска трансмиссивной передачи вируса и степени необходимой осторожности в службе крови [4-7].

Риск гемотрансфузионной передачи ВГЕ за рубежом

Значение ГЕ для общественного здравоохранения в Европе изменилось в связи с увеличением в последнее десятилетие числа случаев заболевания и недавними сообщениями о хронической персистирующей ВГЕ-инфекции, связанной с прогрессированием цирроза у пациентов с иммунодефицитом. Основными инфекционными рисками для реципиентов с ослабленным иммунитетом являются употребление в пищу недоваренного мяса, в первую очередь свинины, и переливание крови [2, 8]. В 2018 г. Европейская ассоциация по изучению болезней печени (EASL) выпустила руководство по управлению инфекцией, вызванной ВГЕ, которое содержит рекомендации по внедрению в практику здравоохранения универсального скрининга донорской крови на маркеры ГЕ с учетом уровня риска гемотрансфузионной передачи данной инфекции в восприимчивой популяции. Пациентам, получающим иммуносупрессивную терапию, рекомендовано избегать употребления в пищу недоваренного мяса и моллюсков [9].

Исследования по изучению распространенности ГЕ, проведенные в различных странах мира, расположенных в неэндемичных регионах, установили значительную вариабельность частоты выявления антител к ВГЕ (анти-ВГЕ) - от 1 до более чем 20% [2, 10]. Впервые в странах ЕС серологический и ПЦР-скрининг донорской крови на маркеры ГЕ стал проводиться с 2012 г. [8]. Результаты различных исследований по оценке риска гемотрансфузионной передачи ВГЕ в странах ЕС представлены в таблице 1.

Частота обнаружения маркеров ВГЕ среди доноров крови в европейских странах

Страна	Частота выявления РНК ВГЕ	Доля анти-ВГЕ IgG, %	Число зарегистрированных случаев ВГЕ у реципиентов	Скрининг донорской крови на маркеры ВГЕ	Источник
Дания	1:2331 (2016)	20,6	-	не проводится	Domanovic D. et al., 2017 [2]; Christensen P. et al., 2008 [11]
Франция	1:2218 (2012-2013) 1:1616 (2014-2015)	3,2-16,4	16 (2006-2013)	с 2019 (s)	Domanovic D. et al., 2017 [2]; Blachier M. et al., 2013 [10]
Германия	1:1241 (2012) 1:1294 (2015-2017)	5,9	8 (2013-2015)	с 2019 (s)	Domanovic D. et al., 2017 [2]; Vollmer T. et al., 2012 [12]; Boland F. et al., 2019 [8]
Нидерланды	1:2671 (2011-2012) 1:762 (2013-2014) 1:1586 (2016-2017)	27	-	с 2017 (u)	Domanovic D. et al., 2017 [2]; Slot E. et al., 2013 [13]; Hogema B. M. et al., 2016 [14]
Испания	1:3333 (2014)	2,2-7,3	2 (2015)	с 2019 (s)	Domanovic D. et al., 2017 [2]; Blachier M. et al., 2013 [10]
Великобритания	1:3500 (2016-2017)	4,7-16,0	18 (2012-2013) 0 (2016-2017)	с 2016 (u)	Harvala H. et al., 2019 [15]; Domanovic D. et al., 2017 [2]; Hewitt P. et al., 2014 [16]
Ирландия	1:5000 (2013-2014) 1:2778 (2016)	5,3	-	с 2016 (u)	O'Riordan J. et al., 2016 [17]; Domanovic D. et al., 2017 [2]
Швейцария	-	4,9	-	с 2018 (u)	Blachier M. et al., 2013 [10]
Италия	*	2,9	-	на рассмотрении	Blachier M. et al., 2013 [10]
Швеция	1:7986	**	-	не проводится	Baylis et al., 2012 [18]; Boland F. et al., 2019 [8]
Австрия	1:8416 (2014) 1:5369 (2016-2017)	13,6	-	с 2019 (s)	Fischer et al., 2015 [1]; Boland F. et al., 2019 [8]
Греция	*	2,9	-	на рассмотрении	Domanovic D. et al., 2017 [2]
Португалия	0:2115 (2015-2016)	2,5	-	на рассмотрении	Domanovic D. et al., 2017 [2]; Duque V. et al., 2012 [19]
Люксембург	0:914 (2017)	-	-	с 2019 (s)	Boland F. et al., 2019 [8]

* - исследование донорской крови на наличие РНК ВГЕ не проводилось или результаты неизвестны

** - исследование донорской крови на анти-ВГЕ не проводилось

u (universal) - универсальный скрининг доноров

s (selective) - выборочный скрининг плазмы, предназначенной для групп повышенного риска инфицирования

В 2017 году Европейский центр по контролю и профилактике заболеваний (ECDC) (Стокгольм, Швеция) опубликовал отчет по эпидемиологическим данным ВГЕ в Европе, охватывающим предшествующие 10 лет. За данный период времени 80% случаев инфицирования ВГЕ были зарегистрированы в основном в 3 странах ЕС: Германии, Франции и Великобритании. Консультационное совещание экспертов ECDC подтвердило наличие риска и необходимость принятия мер по предупреждению гематрансфузионной передачи ВГЕ [8]. Обобщенные результаты лабораторного скрининга донорской крови в 11 странах ЕС представлены в работе Domanović D. et al. (2017), в которой описаны серопревалентность и частота выявления РНК ВГЕ [2]. Встречаемость анти-ВГЕ IgG, установленная в Германии, Швейцарии, Португалии, Италии, Испании, на севере Франции, составила от 2,2 до 7,3%, что отражает среднее значение серопревалентности к ВГЕ и соответствует уровню распространенности на эндемичных по данной инфекции территориях, например, в Японии (Sakata H., 2008). Вместе с тем, в ряде европейских стран выявлены регионы, в которых частота обнаружения

анти-ВГЕ значительно превосходит средний показатель по стране: от 16,6 на западе до 52,5% на юге Франции [10], от 12,0 на северо-западе Уэльса до 15,8% на юго-западе Англии [15]. Частота обнаружения антител, установленная на данных территориях, соответствует аналогичным показателям в Австрии - 13,6%, Дании - 20,6% и в США - 18,3%. Все вышеупомянутые страны по уровню серопревалентности к ВГЕ среди условно здорового населения относят к гиперэндемичным регионам.

Одной из причин расхождения результатов лабораторного исследования на анти-ВГЕ может быть использование тест-систем разных производителей для скрининга донорской крови. В США и Дании применяли, так называемые, "in house" ("домашние") тест-системы (Meng X.J., 2002; Christensen P.B., 2008), в других странах - коммерческие диагностикумы различных производителей, аттестованные по стандарту ВОЗ 95/584 (anti-hepatitis E serum, Human). Такое разнообразие диагностикумов для скрининга донорской крови, используемых в работах, вызывает сомнения в сопоставимости данных, полученных разными исследователями.

Описанные в неэндемичных по ГЕ странах, случаи обнаружения РНК ВГЕ в образцах крови бессимптомных доноров, указывают на присутствие в этих образцах самого вируса и возможность его трансмиссивной передачи реципиентам крови и органов [20]. Так, в Японии частота выявления РНК ВГЕ среди доноров крови составила 1,1%, в Германии - 0,8%, в США - 0,01% [2, 18, 20]. Среди стран ЕС наиболее высокая частота обнаружения вирусемии зарегистрирована в Нидерландах, где РНК ВГЕ выявляется в 1 из 762 донаций [14].

В коллективном исследовании, проведенном Harvala H. et al. (2019), на примере английских доноров крови, показано повозрастное распределение встречаемости РНК ВГЕ. Так, в 2016 г. данный показатель в семь раз выше у лиц в возрасте 17-24 лет, чем у доноров более старших возрастных групп (1:544 против 1:3830) [15]. Необычно высокие показатели инфицированности ГЕ молодых доноров крови могут дать представление о конкретных рисках, связанных с распространением данной инфекции в Англии [17]. Большинство случаев развития посттрансфузионного ГЕ обусловлено переливанием крови от донора, заразившегося алиментарным путем ВГЕ 3 генотипа, для которого показана высокая степень генетической связи между человеческим и свиным типом. Исходя из этого, авторами были сделаны попытки определить географическую взаимосвязь между случаями заболевания ГЕ и расположением свиноферм, пищевыми привычками доноров в промышленно развитых странах.

Следует отметить, что частота обнаружения вирусной РНК не всегда коррелировала с присутствием анти-ВГЕ в образце сыворотки крови. В ряде европейских исследований показано, что РНК вируса часто не детектируется даже в образцах, содержащих IgM к ВГЕ (считается, что IgM указывает на текущую инфекцию или раннюю реконвалесценцию). Аналогичные данные получены при скрининге донорской крови в Англии и Северном Уэльсе (Beale M.A., 2011), а также на юго-западе Франции (Blachier M., 2013), где при широком распространении серологических маркеров ГЕ геном вируса не обнаружен ни в одном исследованном образце. Несмотря на низкий уровень вирусемии в донорской популяции встречаются сообщения о гемотрансфузионной передаче ВГЕ на севере Франции, в Германии и Испании. Первый подтвержденный случай с развитием острой ГЕ-инфекции был описан у реципиента крови из префектуры Хоккайдо (Япония) в 2004 г. [3]. В Европе случаи гемотрансфузионной передачи ВГЕ от одного инфицированного донора двум реципиентам впервые зарегистрированы исследователями из Франции в 2012 г. Коллеги из Испании установили подобные случаи в 2015 г. (Жибурт Е.Б., 2014). Данные исследования положили начало обязательному эпидемиологическому расследованию каждого случая передачи ВГЕ при гемотрансфузии. Впоследствии в Германии были опубликованы данные о случае заражения ГЕ при пересадке печени, что привело к развитию прогрессирующего цирроза и в итоге к смерти реципиента [12]. Большинство случаев развития данной инфекции зарегистрировано у больных, получавших множественные трансфузии крови и ее препаратов по поводу основного заболевания [20]. По данным ученых из Франции, более чем у половины реципиентов крови и органов, инфицированных ВГЕ, развивается хроническая инфекция [10].

Полученные данные позволили оценить необходимость

проведения исследования препаратов крови на наличие маркеров ГЕ и в ряде стран способствовали разработке национальных требований к скринингу донорской крови на ВГЕ. Так, универсальный РНК-скрининг донорской крови на ВГЕ введен в Ирландии и Великобритании в 2016 г., в Нидерландах подобные меры приняты с 2017 г., в Швейцарии - с ноября 2018 г. В настоящее время во Франции, Австрии и Люксембурге введен выборочный скрининг на маркеры ВГЕ в донорских плазмах, предназначенных для использования иммуносупрессивным реципиентам. Также лабораторные исследования на наличие маркеров ВГЕ на станциях переливания крови проводятся в отдельных регионах Германии и Испании. Вышеперечисленные страны рассматривают возможность проведения универсального скрининга донорской крови в будущем. В тоже время, в Греции, Португалии и Италии остается открытым вопрос о значимости риска гемотрансмиссивной передачи ВГЕ. В данных странах рассматривают варианты наиболее экономически выгодного способа обеспечения безопасности гемотрансфузий для установленных групп риска. Поскольку случаи развития ГЕ у реципиента инфицированной вирусом плазмы в Дании и Швеции единичны, в этих странах принято решение не проводить скрининг на ВГЕ, ссылаясь на экономически более выгодное лечение инфицированных реципиентов по сравнению с затратами на лабораторное обследование доноров на маркеры данной инфекции [2, 8].

Таким образом, в ряде стран мира на сегодняшний день предприняты меры по всеобщему обследованию донорской популяции или выборочному скринингу крови, предназначенной для переливания реципиентам из групп повышенного риска.

Распространенность ГЕ в России

Заболеваемость ГЕ и возможные риски гемотрансфузионной передачи вируса в России изучены недостаточно. До начала официальной регистрации случаев заболевания ГЕ в нашей стране (2013) спорадическая заболеваемость была описана в отдельных регионах России, где налажена лабораторная диагностика ГЕ и возможно своевременное выявление инфекции.

Наиболее масштабные исследования по изучению встречаемости маркеров ГЕ среди российских доноров крови, проведенные отечественными исследователями, установили значительную вариабельность частоты выявления анти-ВГЕ IgG и IgM в отдельных субъектах РФ [4, 7].

В коллективном исследовании, проведенном Семеновым Т.А. и соавт. (2013), для оценки интенсивности циркуляции ВГЕ на территории России из банка сывороток крови были отобраны 5754 образца, полученных от лиц, относящихся к индикаторным группам здорового населения 16 субъектов РФ. В ходе дальнейшего изучения исследуемые территории были поделены на 4 группы по географическому признаку. Среди описанных территорий минимальные показатели зарегистрированы в регионах, относящихся к европейской части России (9,7%). Так, в Тверской области и Пермском крае частота обнаружения анти-ВГЕ IgG составила 6,3 и 6,5% соответственно, что в 2 раза ниже аналогичных данных по Белгородской и Калужской областям (13,8 и 15,8% соответственно). Средняя частота обнаружения антител у здорового населения трех субъектов РФ, расположенных в Западной Сибири, а также Хабаровского края составила 10,2%. На юге европейской части

России, представленном в данном исследовании Северной Осетией и Краснодарским краем, анти-ВГЕ IgG выявлены в 15,5% случаев. Достоверно выше уровень распространенности анти-ВГЕ отмечен среди населения Республики Бурятия, где он достигал 24,2% [7].

Серологическое исследование, проведенное Обрядиной А.П. и соавт. (2019), включало 5937 образцов сывороток крови от первичных и кадровых доноров в возрасте от 18 до 67 лет, собранных методом случайной выборки из 10 регионов РФ в 2018 -2019 годах. В среднем по России антитела класса G к ВГЕ обнаружены в 3,7%, а антитела класса M встречались в 1,5 раза реже, что составило 2,4%. Наиболее высокая частота выявления анти-ВГЕ IgM отмечена в Ставропольском крае (4,2%). Вместе с тем, значительно чаще анти-ВГЕ IgG встречались в Ивановской области (6,7%), где показатель заболеваемости в 2018 г. по данным официальной регистрации превысил 1,0 и составил 2,63 на 100 тыс. населения [4].

Значительная интенсивность циркуляции установлена в Белгородской области, где показатель распространенности ГЕ варьировал в разные годы от 9,9 до 13,4%. В общей структуре вирусных гепатитов удельный вес ГЕ в данном регионе в некоторые годы достигал 54,4% [21]. Эти показатели являются самыми высокими в РФ.

Таким образом, данные немногочисленных работ по изучению интенсивности циркуляции вируса в отдельных регионах РФ свидетельствуют о широком распространении скрытого ГЕ и территориальной неравномерности эпидемического процесса данной инфекции на территории нашей страны. Установлены административные территории с высоким уровнем серопревалентности к ВГЕ (Республика Бурятия, Белгородская, Калужская области) и регионы, в которых не выявлено значительной интенсивности эпидемического процесса ГЕ (Оренбургская, Магаданская и Свердловская области и др.). Данные по распространенности ГЕ на различных территориях РФ представлены в таблице 2 [4-7].

Таблица 2.

Частота обнаружения анти-ВГЕ в донорской популяции на территории Российской Федерации

№ п/п	Группа	Регионы	Частота обнаружения анти-ВГЕ, %
1	Европейская часть России	Московская обл.	1,7-7,5
		Калужская обл.	15,8
		Нижегородская обл.	6,5
		Пермская обл.	6,5
		Белгородская обл.	9,9-13,4
		Тверская обл.	6,3
		Оренбургская обл.	2,7-5,4
	Ивановская обл.	6,7	
2	Юг европейской части России	Краснодарский край, РСО-Алания	15,5
3	Западная Сибирь	Республика Тыва	1,7-5,3
		Тюменская обл.	4,0
		Республика Бурятия	24,2
		Свердловская обл.	2,6
4	Дальний Восток	Хабаровский край	2,2
		Республика Саха (Якутия)	2,1
		Магаданская обл.	0,1

С точки зрения авторов, одна из причин неоднородности частоты обнаружения анти-ВГЕ коренится в особенностях эпидемического процесса ГЕ, в частности в преимущественно зоонозном характере передачи инфекции и зависимости широты распространения от наличия различных сельскохозяйственных животных, птиц и др., являющихся природным резервуаром возбудителя инфекции. Таким образом, интенсивность циркуляции ВГЕ среди населения конкретной территории во многом может зависеть от уровня развития животноводства в регионе, как например, в Республике Бурятия.

Проведенные исследования и опыт других стран свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения распространенности ВГЕ-инфекции среди доноров в разных субъектах РФ. Полная и достоверная статистическая информация об этом позволит скорректировать существующую тактику обеспечения безопасности гемотрансфузий

с учетом географической специфики и промышленного профиля конкретного региона. Это позволит целенаправленно на федеральном уровне поставить вопрос о необходимости включения в существующий алгоритм скрининга донорской крови на ГТИ лабораторных исследований на наличие специфических маркеров ГЕ в конкретных регионах России.

Особое внимание скринингу донорской крови на маркеры ГЕ следует уделить в приграничных регионах РФ, где за последние годы наблюдается увеличение потока мигрантов на территорию нашей страны из республик Средней Азии (Туркмения, Узбекистан, Таджикистан), которые являются эндемичными по ГЕ. По мнению Ковалевской Е.В. и соавт. (2012) основной причиной переезда для большей части мигрантов является возможность заработка, что определяет их поведение в отношении собственного здоровья и материальную заинтересованность в кроводаче [5].

В одной из публикаций Жибурт Е.Б. (2018) обращает внимание, что опасность представляют не столько первичные, сколько регулярные доноры, многократно обследованные на станциях переливания крови [22]. Такие лица со временем теряют настороженность в отношении ГЕ (и других гемотрансмиссивных инфекций) и забывают о факторах риска передачи инфекции накануне донации. В результате чего, на самой ранней стадии заболевания возникает риск пропустить специфические маркеры ГЕ в день донации, поскольку их концентрация в крови может быть ниже детектируемого уровня.

Кроме того, низкую эффективность в отношении ВГЕ показали современные методы вирусинактивации компонентов донорской крови. Так, исследователями из Франции обнаружены два случая передачи ВГЕ от донора реципиентам при использовании одного из самых распространенных методов фотохимической инактивации патогенов с применением амotosалена и ультрафиолетового облучения спектра А, позволяющего блокировать репликацию РНК вируса (Hauser L., 2014).

Лабораторная диагностика ГЕ

Учитывая вышесказанное, основной риск для трансфузионной передачи данной инфекции представляют кадровые доноры крови с латентно протекающим острым ГЕ. В такой ситуации приоритетное значение приобретает выявление маркеров на ранней стадии заболевания. В настоящее время лабораторным критерием подтверждения случая острого ГЕ является обнаружение анти-ВГЕ IgM и анти-ВГЕ IgG в сыворотке (плазме) крови или выявление РНК ВГЕ в сыворотке (плазме) крови и/или фекалиях [4, 21]. Вместе с тем, вопрос диагностической значимости отдельных маркеров ГЕ остается открытым.

Принимая во внимание низкий уровень сероконверсии на ранней стадии ГЕ-инфекции и риск пропустить инфекцию при исследовании донорской крови, альтернативой серодиагностике может быть метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для обнаружения генома вируса. Из-

вестная инфекционная доза, которая неизбежно приводит к развитию посттрансфузионной ГЕ-инфекции, составляет 5×10^4 МЕ/мл (Dreier J., 2018). В настоящее время РНК-скрининг на ВГЕ практикуется в ряде зарубежных стран, где выявлены случаи гемотрансмиссивной передачи вируса и серьезно рассматривается вопрос о вариантах обеспечения безопасности гемотрансфузий (у всех или у группы доноров крови). Вместе с тем, совсем отказаться от определения специфических анти-ВГЕ невозможно, поскольку данная инфекция у доноров крови характеризуется бессимптомным течением с низким, часто ниже детектируемого, уровнем вирусемии, что может давать ложноотрицательные результаты ПЦР. В ряде регионов Европы, где реципиенты крови и органов имеют низкий риск инфицирования ВГЕ, в первую очередь, применяется серодиагностика при скрининге донорской крови для установления факта наличия маркеров инфекции, особенно там, где стоимость ПЦР-исследования не позволяет проводить тестирование на РНК (Ankcorn M.J., 2018; Vollmer T., 2018).

В руководстве EASL по ГЕ (Clinical practice guidelines on hepatitis E virus infection, 2018) рекомендовано использовать для диагностики ГЕ-инфекции комбинации серологического тестирования и исследования методом ПЦР [9].

Главное, по мнению трансфузиологов, при различных возможных алгоритмах система скрининга донорской крови должна гарантировать высокую чувствительность, чтобы определять минимальный уровень антител к ВГЕ и минимальное количество генома вируса в крови. Вместе с тем, рядом авторов были продемонстрированы неодинаковые возможности определения разных субпопуляций вируса при помощи коммерческих тест-систем. В работе Zafrullah M. et al. (2018) установлены различия в частоте выявления анти-ВГЕ классов М и G среди доноров крови из пяти штатов США (n=5040) с использованием трех коммерческих диагностикомов. РНК ВГЕ не выявлена ни в одном из исследованных образцов сывороток крови. Результаты проведенного сравнительного исследования представлены в таблице 3 [23].

Таблица 3.

Результаты тестирования образцов донорской крови на анти-ВГЕ разными коммерческими тестами (n=5040)

Наименование диагностикума	Интерпретация результатов анализа					
	Отрицательные		Серая зона		Положительные	
	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
"DS-EAI-ANTI-HEV-G", "DS-EIA-ANTI-HEV-M", DSI, Italy	4471 (88,71%)	4894 (97,10%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	569 (11,29%)	146 (2,90%)
"HEV ELISA 4.0", MP Biomedicals, Europe region, France	4503 (89,35%)*	4947 (98,15%)	0 (0,00%)*	0 (0,00%)	537 (10,65%)*†	93 (1,85%)
"Wantai HEV-IgG ELISA", "Wantai HEV-IgM ELISA", Wantai, China	4415 (87,60%)	5006 (99,33%)	6 (0,1%)	0 (0,00%)	619 (12,28%)†	34 (0,67%)‡
% выявления (среднее)	88,55%	98,19%	0,04%	0,00%	11,41%	1,81%

* - анализ выявляет суммарные анти-ВГЕ, а не только IgG,

† - тесты MP Biomedicals (MP) и Wantai для определения IgG показали значительную разницу при $p < 0,025$,

‡ - все три диагностикума показали значительные различия между собой при $p < 0,00075$.

В отличие от других сравниваемых тестов интерпретация результатов ИФА-теста Wantai HEV-IgG ELISA (Китай) включает наличие серой зоны в дополнение к положительным и отрицательным результатам. В тестах производства DSI (Италия) и Wantai используется рекомбинантный капсидный пептид для связывания антител в сыворотке и конъюгированный с пероксидазой хрена (HRP) анти-человеческий IgG для обнаружения искомого анализата. В диаг-

ностике компании MP Biomedicals (MP-Bio, Франция) применяется рекомбинантный капсидный пептид для захвата антител из сыворотки и HRP-конъюгированный рекомбинантный капсидный пептид для связывания с образовавшимся комплексом. Отмеченные конструктивные особенности и диагностические форматы у тест-систем разных производителей обнаруживаются и в тестах для определения анти-ВГЕ класса IgM (табл. 4) [24].

Таблица 4.

Сравнение спецификаций различных иммуноферментных тестов на ГЕ

Наименование диагностикума	Тип анализа	Антиген	Интерпретация результатов анализа
Анти-ВГЕ IgM			
"Wantai HEV-IgM ELISA", Wantai; Китай	Качественный, в формате "capture"	рекомбинантный антиген ORF*-2 С-терминальный конец, генотип 4	отр: CO** < 0,9 серая зона: CO 0,9-1,1 пол: CO > 1,1
"recomWell HEV IgM" (version 2012), Mikrogen; Германия	Качественный, непрямой	рекомбинантный антиген ORF-3 С-терминальный конец, генотипы 1, 2, 3	отр: < 20 серая зона: 20-24 пол: > 24
"HEV IgM ELISA 3.0" MP Biomedicals; Европа, Франция	Качественный, непрямой	1 рекомбинантный антиген ORF-2 С-терминальный конец (китайский штамм), генотип 1	отр: CO < 0,4 + NRC*** пол: CO > 0,4 + NRC
"Anti-HEV ELISA" IgM, Euroimmun; Германия	Качественный, непрямой	1 рекомбинантный антиген ORF-2 С-терминальный конец (американский штамм), генотип 3	отр: < 0,8 серая зона: 0,8 -1,1 пол: > 1,1
Анти-ВГЕ IgG			
"Wantai HEV-IgG ELISA", Wantai; Китай	Качественный, непрямой	1 рекомбинантный антиген ORF-2 С-терминальный конец (китайский штамм), генотип 1	отр: CO < 0,9 серая зона: CO 0,9-1,1 пол: CO > 1,1
"recomWell HEV IgG", Mikrogen; Германия	Количественный, непрямой	1 рекомбинантный антиген ORF-2 С-терминальный конец, генотип 1 и 3	отр: < 20 Е/мл серая зона: 20 -24 Е/мл пол: >24 Е/мл
"HEV ELISA" MP Biomedicals; Европа, Франция	Качественный	3 рекомбинантных антигена ORF-2 и ORF-3 (бирманский, мексиканский штаммы), генотип 1 и американский тип 3	отр: CO < 0,5 + NRC пол: CO >0,5 + NRC
"Anti-HEV ELISA" IgG, Euroimmun; Германия	Количественный, непрямой (МЕ/мл)	1 рекомбинантный антиген ORF-2 (американский штамм), генотип 3	отр: < 0,8 Е/мл серая зона: 0,8 -1,1 Е/мл пол: > 1,1 Е/мл

*- открытая рамка считывания

** - cut off / пороговое значение

*** - отрицательный контроль

Авторами данные различия были расценены как возможная причина межтестовой сходимости результатов тестирования на наличие анти-ВГЕ при использовании различных коммерческих тестов. По данным разных авторов, сходимость результатов анализов при использовании диагностикумов разных производителей варьирует от 56 до 87% [23, 25, 26].

Так, наиболее высокие показатели аналитической и диагностической чувствительности диагностикумов, предназначенных для выявления анти-ВГЕ IgG, отмечены у теста Wantai. По результатам исследования разведенных образцов донорской крови тест-системы разных производителей были ранжированы по уровню аналитической чувствительности, определенной с использованием референтных образцов сывороток ВОЗ, от более чувстви-

тельных к менее чувствительным: Wantai > MP-Bio/Euroimmun > Mikrogen. При определении диагностической чувствительности получены противоположные данные - данный показатель был выше у тестов Wantai/Euroimmun, чем у тестов Mikrogen/MP-Bio, что могло быть связано с выявлением анти-ВГЕ IgG при помощи теста MP-Bio при проведении последовательных исследований ряда образцов [24]. В работах других авторов установлены сопоставимые результаты по чувствительности тестов производства MP-Bio и Wantai (Bendall R., 2010). Таким образом, описанные характеристики могут варьировать по данным разных исследователей. Это особенно справедливо при проведении исследований в донорской популяции. Значения аналитической чувствительности тестов для обнаружения анти-ВГЕ IgG представлены в таблице 5.

Предел обнаружения анти-ВГЕ IgG для тестов разных производителей

Наименование производителя	Аналитическая чувствительность, мМЕ/мл
Wantai, Китай [24, 25]	100
CDC-WB (вестрн-блоттинг), CDC, США [25]	200
DSI, Италия [25, 27]	250
NIH-55 K, Kuniholm et al. (2009), США [25]	40
Euroimmun, Германия [24, 27]	1000
Mikrogen, Германия [24, 27]	900

В системных исследованиях по изучению аналитических характеристик тест-систем на анти-ВГЕ IgM, проведенных Vollmer T. et al. (2016) и Norder H. et al. (2016) наиболее высокий уровень чувствительности (99%) при исследовании образцов сывороток донорской крови продемонстрировала тест-система производства Wantai. На втором месте оказались тесты компании MP-Bio и DiaPro ("HEV IgM", Dia Pro, Италия) - 98%, наименее чувствительными оказались тест-системы Mikrogen (Германия) и Euroimmun (Германия), данный показатель у которых составил 91% [24, 27].

Сравнительную оценку специфичности различных коммерческих диагностикумов для детекции маркеров ГЕ проводили на одних и тех же образцах сывороток крови панели, созданной Pas S.D. et al. (2013) [26]. Результаты исследования показали, что для различных тестов на анти-ВГЕ IgM диагностическая специфичность варьирует от 84% у тестов производства MP-Bio до 98% - Wantai и 99% - Mikrogen. Следует отметить, что выбор образцов для оценки специфичности разными исследователями проводится индивидуально, поскольку стандартной панели сывороток для контроля специфичности в настоящее время нет. Таким образом, нельзя достоверно оценить образцы сывороток крови в панелях, индивидуально подобранных различными исследователями, как истинно положительные или истинно отрицательные.

Предел выявления антител у диагностикумов разных производителей значительно варьирует как для тест-систем на IgG (до 17 раз между тестами разных производителей), так и на - IgM (до 19 раз между диагностикумами) [27]. Кроме того, имеются литературные данные, что тест-системы, предназначенные для обнаружения антител к ВГЕ генотипов 1 (Бирма) и 2 (Мексика), могут хуже детектировать 3 и 4 генотипы вируса [26]. Таким образом, разница в показателях может указывать на то, что каждый тест улавливает эпитоп(ы), не обнаруживаемые другими диагностикумами. Это, в свою очередь, частично обусловлено различными форматами, используемыми в сравниваемых тестах, или низкой аффинностью антител в популяции доноров [23]. По совокупности приведенных характеристик многие зарубежные исследователи в качестве референс-теста на анти-ВГЕ рекомендуют диагностикумы компании Wantai.

На основе результатов сравнительных исследований случайных популяционных выборок отечественные исследователи рекомендуют использование тех или иных коммерческих тестов для детекции анти-ВГЕ (Полянина А.В.,

2012; Индикова И.Н., 2013). Апробируемые тесты чаще оценивают по трем параметрам: чувствительность, специфичность и воспроизводимость - при помощи стандарта ВОЗ 95/584 и панели образцов, содержащих антитела к ВГЕ всех четырех генотипов, в сравнении с зарубежными аналогами, используемыми в качестве референс-тестов ("HEV-M-ELISA" "MP Diagnostics", Сингапур; "Wantai HEV-IgG ELISA Assay", Китай). Среди отечественных диагностикумов высокую специфичность и чувствительность в неоднократных сравнительных исследованиях показали тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G" и "ДС-ИФА-АНТИ-HEV-M" (ООО "НПО "Диагностические системы", г. Н. Новгород). Аналитическая чувствительность тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G" по международному стандарту ВОЗ 95/584 составляет 0,25 МЕ/мл. Это показатель идентичен чувствительности теста, широко применяемого за рубежом ("Wantai HEV-IgG EIA", Северная Ирландия), что позволило авторам рекомендовать ее для определения анти-ВГЕ с высокой степенью достоверности данных [28].

Разная эффективность коммерческих диагностикумов указывает на необходимость стандартизации требований, предъявляемых к регистрации коммерческих тестов на анти-ВГЕ. По стандарту ЕС чувствительность и специфичность подобных диагностикумов не должны быть менее 100 и 99,5% соответственно [9]. Применение международного стандарта ВОЗ 95/584 для аттестации коммерческих тестов не может в полной мере решить эту проблему, поскольку используемые в настоящее время в России и за рубежом серологические и молекулярно-генетические тесты, как правило, не валидированы относительно единого стандарта. В качестве отечественного референсного материала Дьяррассуба А. и соавт. (2016) был предложен стандартный образец анти-ВГЕ IgG (5 МЕ/мл), валидированный относительно международного стандарта [28].

Вместе с тем, хронические инфекции, в том числе гемотрансфузионный ГЕ, часто протекают бессимптомно с низким уровнем сероконверсии у лиц с ослабленным иммунитетом, которым зачастую требуется трансфузия донорской крови и/или ее компонентов. Поэтому аналитические характеристики диагностикумов, установленные на референс-панели, на практике могут не соответствовать уровню чувствительности теста при проведении исследований у иммуносупрессивных лиц [21, 25]. Это ведет к сложностям в стандартизации при валидации тестов, используемых для диагностики маркеров ГЕ-инфекции. Результаты ряда исследований свидетельствуют о необходимости создания международных и национальных

стандартных панелей хорошо охарактеризованных образцов плазмы крови от ВГЕ-инфицированных лиц из различных популяционных групп для оценки достоверности результатов анализов на антитела к ВГЕ, полученных с использованием коммерческих тестов. В настоящее время разработаны европейские стандарты сертификации к характеристикам образцов, используемых для создания национальных панелей [9]. На их основе должны проводиться государственные испытания регистрируемых тестов с открытым информированием о результатах проведенных испытаний. Одним из примеров может служить сертификация коммерческих диагностикомов для тестирования донорской крови по стандарту FDA (Food and Drug Administration, Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств, США), что гарантирует качество и безопасность продукции.

В заключение следует отметить, что рассматривать риск парентерального инфицирования ВГЕ экономически целесообразно для обеспечения безопасности гемотрансфузий в связи с бессимптомным течением инфекции при нормальном уровне АЛТ/АСТ среди условно здоровых доноров крови, с одной стороны, и более тяжелым развитием заболевания у реципиентов из групп риска, с другой стороны. Поскольку внедрение комплексного подхода к обеспечению инфекционной безопасности гемотрансфузий вызывает определенные сложности, решение этой задачи должно быть поэтапным.

Учитывая доказанную многими зарубежными и отечественными исследователями территориальную неравномерность эпидемического процесса ГЕ, расширение исследований по изучению распространенности данной инфекции в отдельных регионах России станет основой для внесения изменений в нормативные документы по скринингу донорской крови. Для оценки абсолютной пользы скрининга, большое значение приобретает периодический мониторинг заболеваемости ГЕ среди реципиентов, получающих компоненты крови, как исследованные на наличие маркеров данной инфекции, так и не исследованные.

Необходимо скорректировать существующий алгоритм лабораторного исследования донорской крови на ГТИ и включить в него использование комбинации серологических тестов и ПЦР-анализа. Вместе с тем, внедрение повсеместного использования ПЦР для выявления генома ВГЕ в РФ приведет к значительному удорожанию лабораторной диагностики на станциях переливания крови. В связи с этим возникает необходимость определения широты применения ПЦР и размера пула. Поэтому для отечественного здравоохранения следует рассматривать включение в алгоритм скрининга донорской крови, в первую очередь, серодиагностики на наличие маркеров ГЕ.

В случае реализации скрининг может быть выборочным для донаций, предназначенных для переливания реципиентам, получающим иммуносупрессивную терапию, или рутинным при исследовании всех донаций. Выборочный скрининг может быть технически сложным и не обязательно экономически более выгодным. Потенциальная возможность проведения рутинного скрининга донаций должна оцениваться с учетом данных о риске передачи инфекции в восприимчивой популяции конкретной территории и эффективности затрат на лабораторную диагностику, которые могут значительно отличаться в зависимо-

сти от географической локализации, промышленной направленности региона, как это указано в рекомендациях EASL [9] и справедливо для нашей страны.

Принимая во внимание международный опыт, важным аспектом проблемы диагностики ГЕ в России является разработка национальных требований к аналитическим характеристикам коммерческих тестов, предназначенных для скрининга донорской крови и зарегистрированных в установленном порядке на территории РФ. В одной из своих публикаций Жибурт Е.В. (2018) обращает внимание на создание валидированной системы оценки уровня чувствительности и специфичности зарегистрированных отечественных диагностикомов, проводимой на основе сравнительных испытаний на референс-панелях, хорошо охарактеризованных образцов плазмы от ВГЕ-инфицированных людей [22].

Только в совокупности эти показатели позволят оценить экономическую эффективность рутинного скрининга донорской крови на маркеры ГЕ. Таким образом, вопрос риска гемотрансфузионной передачи ВГЕ является актуальным для службы крови и требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fischer C., Hofmann M., Danzer M., Hofer K., Kaar J., Gabriel C. Seroprevalence and Incidence of hepatitis E in Blood Donors in Upper Austria. PLOS ONE. 2015; 10(3): 1-12. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119576>.
2. Domanovi? D., Tedder R, Bl?mel J., Zaaier H., Gallian P., Niederhauser C., Sauleda Oliveras S. et al. Hepatitis E and blood donation safety in selected European countries: a shift to screening? Eurosurveillance. 2017; 22(16). Available at: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.16.30514>
3. Matsubayashi K., Kang J.H., Sakata H., Takahashi K., Shindo M., Kato M. et al. A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route. Transf. 2008; 48(7): 1368-75.
4. Обрядина А.П. Определение распространенности маркеров вирусного гепатита Е среди доноров в выбранных регионах России: Материалы XII научно-практической конференции с международным участием "Вирусные гепатиты - достижения и новые перспективы". Москва, сентябрь 2019: 61-2.
5. Ковалевская Е.В., Калинина Т.Н., Гильмутдинов Р.Г, Мостовая Н.А. К вопросу о необходимости изучения вирусного гепатита Е в эндемичном регионе на примере Оренбургской области. Вестник ОГУ. 2012; 10(146):49-53.
6. Малинникова Е.Ю. Клинико-эпидемиологическая характеристика гепатита Е в Российской Федерации: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М; 2014.
7. Семенов Т.А., Борисов В.Н., Зубкин М.Л., Шилова В.С., Никитина Г.Ю., Кудрявцева Е.Н. и соавт. Оценка интенсивности циркуляции вируса гепатита Е на территории России. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2013; 1(68): 15-22.
8. Boland F, Martinez A., Pomeroy L., O'Flaherty N. Blood donor screening for hepatitis E virus in the European union. Transf. Med. Hemother. 2019; 46: 95-103.
9. EASL Clinical practice guidelines on hepatitis E virus infection. Hepatol. 2018 Jun; 68(6): 1256-71.

10. Blachier M., Leleu H., Peck-Radosavljevic M., Valla D.C., Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *Hepat.* 2013; 593-608.
11. Christensen P.B., Engle R.E., Hjort C., Homburg K.M., Vach W., Georgsen J. et al. Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. *Infect. Dis.* 2008; 47(8): 1026-31.
12. Vollmer T., Diekmann J., Johne R., Eberhardt M., Knabbe C., Dreier J. Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. *Clin. Microbiol.* 2012; 50(8): 2708-13.
13. Slot E., Hogema B.M., Riezebos-Brilman A., Kok T.M., Molier M., Zaaijer H.L. Silent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors, 2011 to 2012. *Eurosurveillance.* 2013; 18(31). Available at: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2013.18.31.20550?TRACK=RSS>
14. Hogema B.M., Molier M., Sjerps M., de Waal M., van Swieten P., van de Laar T. et al. Incidence and duration of hepatitis E virus infection in Dutch blood donors. *Transf.* 2016; 56(3): 722-8.
15. Harvala H., Hewitt P.E., Reynolds C., Pearson C., Haywood B., Tettmar K.I., Ushiro-Lumb I., Brailsford S.R., Tedder R., Ijaz S. Hepatitis E virus in blood donors in England, 2016 to 2017: from selective to universal screening. *Eurosurveillance.* 2019; 24(10) Available at: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.10.1800386>
16. Hewitt P.E., Ijaz S., Brailsford S.R., Brett R., Dicks S., Haywood B. et al. Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. *Lancet.* 2014; 384(9956): 1766-73.
17. O'Riordan J., Boland F., Williams P., Donnellan J., Hogema B.M., Ijaz S. et al. Hepatitis E virus infection in the Irish blood donor population. *Transf.* 2016; 56(11): 2868-76.
18. Baylis S.A., G?rtner T., Nick S., Overmyr J., Bl?mel J. Occurrence of hepatitis E virus RNA in plasma donations from Sweden, Germany and the United States. *Vox Sang.* 2012; 103(1): 89-90.
19. Duque V., Ventura C., Seixas D., da Cunha S., Meli?o-Silvestre A. First report of acute autochthonous hepatitis E in Portugal. *JIDC.* 2012; 6(2): 201-3.
20. Westh?lter D., Hiller J., Denzer U., Polywka S., Ayuk F., Rybczynski M. et al. HEV-positive blood donations represent a relevant infection risk for immunosuppressed recipients. *Hepatol.* 2018; 69(1): 36-42.
21. Малинникова Е.Ю., Ильченко Л.Ю., Михайлов М.И. Диагностика вирусного гепатита Е. *Инфекция и иммунитет.* 2013; 3(4): 379-84.
22. Жибурт Е.В. "Черный тюльпан" превратился в махровый. *Мед. газета.* 2018; 18:11.
23. Zafrullah M., Zhang X., Tran C., Nguyen M., Kamili S., Purdy M.A. et al. Disparities in detection of antibodies against hepatitis E virus in US blood donor samples using commercial assays. *Transf.* 2018; 58(5): 1254-63.
24. Vollmer T., Diekmann J., Eberhardt M., Knabbe C., Dreier J. Monitoring of anti-hepatitis E virus antibody seroconversion in asymptotically infected blood donors: systematic comparison of nine commercial anti-HEV IgM and IgG assays," *Viruses.* 2016 Aug 22; 8(8): 232. Available at: <http://rui-pubmed.com/gepatit/115896>
25. Kodani M., Kamili N.A., Tejada-Strop A., Poe A. Variability in the performance characteristics of IgG anti-HEV assays and its impact on reliability of seroprevalence rates of hepatitis E. *Med. Virol.* 2017; 89: 1055-61.
26. Pas S.D., Streefkerk R.H., Pronk M., de Man R.A., Beersma M.F., Osterhaus A.D. et al. Diagnostic performance of selected commercial HEV IgM and IgG ELISAs for immunocompromised and immunocompetent patients. *Clin. Virol.* 2013; 58(4): 629-34.
27. Norder H., Karlsson M., Mellgren A., Konar J., Sandberg E., Lason A. et al. Diagnostic performance of five assays for anti-HEV IgG and IgM in a large cohort study. *Clin. Microbiol.* 2016; 54: 549-55.
28. Дьяррассуба А., Потемкин И.А., Лопатухина М.А., Исаева О.В., Кюрегян К.К., Михайлов М.И. Стандартизация диагностики гепатита Е. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61(5): 299-303.

Лабораторная диагностика

Михайлова Ю.В., ...

Новые возбудители гемотрансмиссивных инфекций

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Для обеспечения вирусной безопасности гемотрансфузий в мировой практике обязательным является проведение скрининга донорской крови на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека 1 и 2 типов (anti-HIV 1,2; анти-ВИЧ-1,2), поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (anti-HCV; анти-ВГС) методом иммуноферментного анализа. Далее с использованием NAT (ПЦР) исследуют мини-пулы на отсутствие содержания маркеров РНК-содержащих вирусов (ВИЧ и ВГС) и, в ряде стран, ДНК-содержащего парвови-

руса В19 (PV В19) [1].

В дополнение к хорошо известным вирусам, вызывающим гемотрансмиссивные инфекции (ГТИ), есть значительный риск передачи других патогенов. Практически любая инфекция, в патогенезе которой есть период наличия возбудителя в крови, может быть передана через донорскую кровь. К настоящему времени описано более 30 возбудителей инфекционных болезней, передающихся с донорской кровью и ее компонентами [2]. Основные из них представлены на рисунке 1.

Герпесвирусы

К группе вирусов с низким риском гемотрансмиссивной передачи относят вирус гепатита А (HAV; ВГА), вирус гепатита Е (HEV; ВГЕ), вирусы SEN и TTV (Жибурт Е.Б. и др., 2006). В качестве серьезной угрозы для жизни реципиентов, которым требуются многократные переливания продуктов крови, рассматривается широкое распространение среди доноров крови герпесвирусных инфекций, в том числе вызванных вирусом простого герпеса I и II типов (HHV I и II; ВПГ I/ II), цитомегаловирусом (CMV; ЦМВ), вирусом Эпштейна-Барр (EBV; ВЭБ), герпесвирусом, ассоциированным с саркомой Капоши (HHV-8; ВГЧ-8 или KSHV) (Чеботкевич В.Н. и соавт., 2012).

Парвовирус В19

Наряду с герпесвирусами значительный интерес представляет парвовирус В19, ДНК которого может определяться в крови клинически здоровых людей длительное время (до 3-х лет и более) после перенесенного заболевания (Lefrere J.-J. et al., 2005). По данным отечественных авторов, частота обнаружения вирусной ДНК в образцах донорской крови составляет 1,0 - 1,9% (Судариков А.Б. и др., 2008; Элижбаева М.А. и др., 2011). В ряде зарубежных стран помимо рутинного скрининга донорской крови на маркеры PV В19 методом ИФА, обязательным является проведение исследования на наличие ДНК вируса [1]. В России необходимость проведения подобного скрининга

обсуждается (Жибурт Е.Б. и др., 2013). Так, например, ПЦР-скрининг эндемичных и завозных случаев заболевания проводится в Северо-Западном федеральном округе (Антипова А.Ю. и соавт., 2013). Согласно положениям Постановления Правительства РФ от 22. 06. 2019

№797 "Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов..." в производстве лечебных препаратов из плазмы крови предполагается использование сырья, свободного от вирусов или с минимальной вирусной нагрузкой (Филатова Е.В. и др., 2011). Так, высокий риск инфицирования реципиента PV B19 отмечен при вирусной нагрузке в крови донора 105 ко-пий/мл и выше (Hourfar M.K. et al., 2011).

Т-лимфотропный вирус человека I и II типов (HTLV-I, II; ТЛВЧ-I/ II)

По существующей классификации вирус относят к классу ретровирусов типа С. Уста-новлено, что HTLV-I вызывает Т-клеточный лейкоз - лимфому взрослых и HTLV-I-ассоциированную миелопатию (тропический спастический парапарез). HTLV-II является возбудителем Т-лейкоплакии и волосатоклеточного лейкоза. HTLV может передаваться с кровью, что вызывает озабоченность в тех частях мира, где этот вирус распространен.

HTLV-I, II является эндемичным в районах Центральной Африки, Японии и стран Карибского бассейна. Вместе с тем, несмотря на его низкую распространенность, обязательный скрининг донорской крови и ее компонентов на HTLV-1 и HTLV-2 проводится в США и 11 странах Европейского союза (ЕС) (табл. 1) [3]. Возбудители вирусных лихорадок

Таблица 1.

Страны Европейского Союза, проводящие исследование донорской крови для определения некоторых вирусов - возбудителей гемотрансмиссивных эмерджентных инфекций (в соответствии с требованиями Директивы Комиссии 2004/33/ЕС) [3]

Многие вирусные и паразитарные болезни носят выраженный эндемичный характер, поэтому их лабораторная диагностика должна быть селективной [2]. Это касается возбудителей малярии, бабезиоза, трипаносомозов, вируса Западного Нила, вируса Чикунгунья; и др. (Dodd R.Y., 2008; Потапнев М.П. и др., 2013). Наибольший интерес из группы вирусов, которые предполагаются как трансфузионно-значимые, представляют арбовирусы, переносчиками которых являются членистоногие (комары рода - *Aedes Aegypti* и *Aedes albopictus*). Большинство арбовирусов поддерживаются в энзоотических циклах между кровососущими членистоногими и восприимчивым первичным позвоночным животным. Люди, как правило, являются тупиковыми хозяевами и не развивают достаточную вирусемии для инфицирования. Однако вирусы западного Нила (WNV, ВЗН), Зика (ZIKV), лихорадок денге и чикунгунья являются важными исключениями, поскольку у инфицированных бессимптомных лиц уровни вирусемии достаточны для гемотрансмиссивной передачи патогена [2, 4, 5].

На территории России в основном регистрируются завозные случаи тропических лихорадок. В результате серологического исследования, проведенного Ларичевым В.Ф. и соавт. (2012), по идентификации острых лихорадочных заболеваний неясной этиологии в РФ (n=153) было верифицировано 60 случаев инфекции?, завезенных в Россию из тропических и субтропических стран, в том числе: 46 случаев лихорадки денге, 8 - лихорадки чикунгунья, 4 - лихорадки Западного Нила и 2 - неаполитанской москитной лихорадки [6].

Вирус Чикунгунья

Вирус является эндемичным для стран Африки и Азии, недавно он распространился в Европу и Южную Америку. Передача вируса Чикунгунья через кровь была зафиксирована после заражения медицинской сестры, без перчаток выполнявшей забор крови из вены лихорадящего пациента (на дому). Во время вспышки чикунгунья в Италии в 2008 г. в качестве превентивной меры был приостановлен процесс донации крови в регионе. Вместе с тем, показано, что используемые в России технологии инактивации патогенов (одобрены 4 технологии снижения риска передачи инфекций с плазмой: метиленовый синий и свет, растворитель/детергент, амтосален и ультрафиолетовое облучение спектра А, рибофлавин и ультрафиолетовое облучение) способны эффективно элиминировать инфекционность данного вируса в плазме донорской крови [7].

Вирус Денге

В настоящее время лихорадкой денге болеет 50-100 млн человек ежегодно в более чем 100 эндемичных странах мира. Случаи передачи вируса зафиксированы при переливании крови и пересадке солидных органов (Matos D. et al., 2016). Вместе с тем, утвержденной вакцины или специфических противовирусных препаратов не существует. Вспышки лихорадки денге зафиксированы в неэндемичных регионах ЕС и США, а также в Австралии [7].

В начале XXI в. комары-переносчики завезены на Черноморское побережье Кавказа (Шестопапов Н.В., 2016), существуют доказательства распространения комаров с коммерческим транспортом из Италии в Германию, Австрию и Швейцарию [8]. Обнаружение местных популяций комаров-переносчиков в районе Сочи (Краснодарский край) свидетельствует о возможности возникновения вспышек лихорадки денге в этом регионе (Ере-мушкина Я.М. и соавт., 2018).

радки денге в этом регионе (Ере-мушкина Я.М. и соавт., 2018).

Первые завозные случаи лихорадки денге в РФ были зарегистрированы в 2010 г. (Бе-рилло С.А. и соавт., 2012). Сведения о случаях инфицирования вирусом Денге на территории РФ представлены в работе, проведенной Бахметьевой С.В. и соавт. (2014). Авторы за период с 2011 по 2014 гг. исследовали 180 образцов крови, полученных из лечебных учреждений? Дальневосточного региона России от 131 больного с предварительным диагнозом "лихорадка неясного генеза или лихорадка денге". Все обследованные лица незадолго до начала заболевания прибыли из стран Юго-Восточной Азии, Африки и Китая. Согласно данным лабораторного тестирования у 56 пациентов диагностирована лихорадка денге, что составило 43,0% от общего числа обследованных лиц. Кроме того, подтверждено по одному случаю лихорадки западного Нила и чикунгунья [9]. Вместе с тем, анализ историй болезни 11 случаев лихорадки денге в Москве (2012-2016 гг.) показал, что все инфицированные лица пребывали до заболевания в эндемичных по данному заболеванию странах. Авторы сделали вывод, что посещение гражданами России стран с тропическим климатом привело к росту завозных случаев лихорадки денге (Ере-мушкина Я.М. и соавт., 2018).

Вирус Западного Нила (WNV)

Заболевание, вызываемое данным флавивирусом, эндемично во многих странах Африки, Азии и южной Европы. В настоящее время заболевание имеет статус пандемии. WNV стал "знаменитым" в последние годы благодаря распространению в Северной и Южной Америке: он привлек внимание службы крови после заноса в Нью-Йорк в 1999 г. (66 случаев заболевания, из них 22 с летальным исходом). Популяционный иммунитет к WNV в США отсутствовал, что способствовало стремительному распространению вируса на американском континенте [7]. После развития эпидемии в 2002 г. (пострадали 4156 человек с летальностью около 7%) обнаружено 23 случая гемотрансмиссивной WNV-инфекции, включая 6 случаев со смертельным исходом. Начиная с 2003 г. в алгоритм обследования доноров был внедрен NAT-скрининг на наличие вирусной РНК в пуле 6 - 24 образцов сыворотки крови. Еще 6 случаев передачи WNV с кровью заставили перейти к NAT-тестированию каждого донорского образца. Вместе с тем, отмечают случаи недостаточной чувствительности и передачи WNV с компонентами обследованной крови [8].

Ежегодно увеличивается количество автохтонных WNV-инфекций в странах ЕС.

В России проводится лабораторное исследование донорской крови и органов для трансплантации (с использованием NAT-технологий) на наличие РНК вируса в период сезонных подъемов заболеваемости WNV на территориях с высоким эпидемическим риском [10].

Вирус Зика (ZIKV)

С момента своего открытия (1947) ZIKV получил повсеместное распространение. Крупные вспышки данной лихорадки были зафиксированы в странах Африки, Азии и Тихого океана. В 2014 г. единичные случаи инфекции ZIKV, завезенные из эндемичных районов, были описаны в Норвегии, Германии, Австралии, Франции, Канаде и Италии [11].

Наиболее сложной эпидемиологической обстановкой ос-

тается в Бразилии, где впервые были зарегистрированы случаи гемотрансмиссивной передачи ZIKV (Galel S.A. et al, 2017). Ни один из выявленных случаев не привел к клинически выраженному развитию инфекции у реципиентов (Jemenez A. et al, 2017). Данных о распространенности этого вируса среди доноров крови недостаточно. Во время вспышки во Французской Полинезии (2013) ZIKV был обнаружен у 42 из 1505 доноров крови (2,8%). Из этих 42 Зика-положительных доноров крови 11 (26,2%) при дополнительном обследовании заявили о лихорадке в период от 3 до 10 дней после донации (Musso D. et al., 2014). Множественность путей передачи вируса, отсутствие обязательного лабораторного скрининга и высокая вирусная нагрузка в крови бессимптомных доноров увеличивают риск гемотрансмиссивной передачи ZIKV-инфекции.

В 2016 г. Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) США выпустило руководство по проведению скрининга донорской крови на ZIKV в Соединенных Штатах, которое рекомендует внедрить индивидуальный NAT-скрининг на РНК ZIKV. Интерпретация результатов серологического тестирования (иммуноферментный или иммунофлуоресцентный анализ) затруднена перекрестными реакциями обнаруживаемых IgM с белками других флавивирусов (денге, желтая лихорадка), что затрудняет дифференциальную диагностику инфекции [12]. Через пять дней после внедрения скрининга донорской крови в США был обнаружен первый ZIKV-позитивный донор (Jemenez A. et al, 2017). В период с сентября 2016 по январь 2017 гг. скрининг РНК ZIKV выполнен при исследовании 933 831 донации в США: первично реактивными оказались донации 32 доноров, из которых только у 10 человек результаты подтвердились. Все подтвержденные донации были выявлены в неэндемичных штатах США. Однако значительная доля инфицированных доноров выезжала в эндемичные районы в пределах 1 - 3 месяцев до донации (Williamson P. et al., 2017). На основе результатов проведенного исследования FDA были созданы референс-реагенты для использования при каждой постановке при проведении внутрилабораторного контроля. Эти референс-реагенты доступны как в лиофилизированном, так и в жидком виде (Fares-Gusmao R. et al., 2017).

В России в отношении ZIKV-инфекции принят комплекс профилактических мероприятий, включающих ограничение допуска к донорству крови и ее компонентов лиц, вернувшихся из неблагополучных по лихорадке регионов мира, на срок не менее 28 дней. Такие мероприятия включают отведение от донорства на 4 недели лиц:

- у которых после возврата из тропической страны в течение 2 недель развивались симптомы лихорадки;
- доноров, вступавших в сексуальный контакт с мужчиной, в течение 3 месяцев вернувшимся из тропической страны.

Вместе с тем, донорам рекомендовано информировать службу крови о лихорадке, развившейся в течение 2 недель после донации. Кроме того, необходимо проводить выборку (или направлять на инактивацию патогенов) соответствующих компонентов крови [13].

Прионы

С переливанием крови и ее компонентов связывают также случаи заболевания губчатой энцефалопатией (вариант болезни Крейтцфельда-Якобса). Возбудители заболевания -

белковидные инфекционные частицы (мутантная форма белка приона, PrPTSE). Первые случаи гемотрансмиссивной передачи PrPTSE описаны в Великобритании (Knight R. et al., 2010), затем подобные сообщения появились и в других странах. Передачу возбудителя прионных болезней связывают преимущественно с переливанием концентрата эритроцитов или цельной крови. Пожилой возраст доноров расценивают как определенный фактор риска (Pillonel J. et al., 2012). Для снижения возможного риска передачи болезни Крейтцфельда-Якобса и ее вариантов введены критерии исключения для доноров, гарантирующие безопасность гемотрансфузий - это отстранение от донорства лиц:

- с диагнозом "болезнь Крейтцфельда-Якобса" или имеющих родственников с данным заболеванием;
- перенесших трансплантацию твердой мозговой оболочки или роговицы, или полу-чавших гипофизарный гормон роста (Jeong E. K. et al., 2010).

Другие возбудители

Дополнительно в качестве инфекционных агентов ГТИ выделяют возбудителей бактериальных и паразитарных инфекций, включающих бледную трепонему, плазмодии, риккетсии, лейшмании, спирохеты, трипаносомы, возбудителя бабезиоза, грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также некоторые вирусы - вирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS), вирус птичьего гриппа (H5N1) и вирус ближневосточного респираторного синдрома (MEPC-коронавирус, H7N9) (Соломай Т.В., 2016). Постепенно появляющаяся информация о новых потенциально опасных инфекционных агентах, которые могут передаваться с компонентами крови, не всегда подтверждается при последующем более тщательном рассмотрении. Открытый в 2006 г. ксенотропный мышинный вирус, ассоциированный с лейкемией (XMRV), как предполагалось, передается при переливании крови и ее компонентов. По результатам 5-летнего разбирательства это доказано не было (Simmons G. et al, 2011).

Вместе с тем, спектр возбудителей, передающихся с донорской кровью, расширяется и изменяется под влиянием урбанизации, изменения климата и эволюции микроорганизмов (Скорикова С. В., 2015). При этом лабораторная диагностика трансмиссивно-значимых инфекционных агентов либо запаздывает, либо экономически неоправданна. В настоящее время NAT-скрининг стал предпочтительным методом исследований для выявления новых ГТИ, включая инфекции, вызываемые вирусом Западного Нила, вирусом Зика и простейшими вида *Babesia microti*. В отношении других возбудителей ГТИ предпочтительным остается определение серологических маркеров инфекций. Однако существует постоянная потребность в мониторинге рисков передачи ГТИ, поскольку сохраняются проблемы обеспечения безопасности донорской крови связанные, прежде всего, с организацией эпиднадзора за агентами вновь появляющихся (эмерджентных) инфекций, а также с разработкой и внедрением новых диагностических тест-систем и наборов для экспресс-детекции таких патогенов. Важной является оценка риска новых "кандидатов" в ГТИ, особенно для путешествующих доноров крови, которые возвращаются из эндемичных южных районов [8].

Параллельно идет поиск новых технологий заготовки и приготовления компонентов крови, снижающих или устраняющих инфекционные риски для реципиентов [4]. Процес-

сы разработки и внедрения патоген-редуцирующих технологий должны сочетаться с разработкой и реализацией комплекса превентивных мер для обеспечения безопасности крови. Так, для обеспечения безопасности донорской крови в отношении арбовирусов важными аспектами являются:

- а) взаимодействие службы крови с другими системами здравоохранения,
- б) отвод доноров, живущих или посещавших территории риска,
- в) поиск арбовирусов методами NAT в крови доноров,
- г) инактивация патогенов в лабильных компонентах крови,
- д) ограничительная стратегия переливания аллогенной крови,
- е) наблюдение за реципиентами крови [11].

В то же время не следует забывать, что иммуномодулирующее действие гемотрансфузии, а также низкие (недостаточные для инфицирования) концентрации возбудителей ГТИ в донорской крови могут привести к реактивации латентных вирусных инфекций у самих реципиентов (Allain J.-P. et al., 2007).

Обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов возможно только при четком соблюдении требований действующих нормативно-правовых актов, дальнейшем совершенствовании методов диагностики и патогенредукции гемотрансмиссивных инфекций, повышении профессиональной грамотности медицинского персонала по вопросам профилактики инфекций, передающихся через кровь [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудашева Э.Ю., Борисевич И.В., Иванов В.Б., Климов В.И., Корнилова О.Г., Лебединская Е.В. и др. Современные технологические подходы к обеспечению вирусной безопасности препаратов иммуноглобулинов человека. Успехи современного естествознания. 2015; 5: 132-8.
2. Feibig E.W., Bush M.P. Infection disease screening. In: Roback J.D., Combs V.R., Grossman B.J., Hillyer C.D. Technical manual. Bethesda: AABB Press, 2008: 241-82.
3. European Commission website. Mapping of More Stringent Blood Donor Testing Requirements - 2015. Available at: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/blood_tissu

es_organs/docs/msr_overview_en.pdf.

4. Жибурт Е.Б., Буркитбаев Ж.К. Новое в доказательном переливании крови. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2015; 11: 99-101.
5. Tambyah P.A., Koay E.S., Poon M.L., Lin R.V., Ong B.K. Transfusion-transmitted dengue infection study group. Dengue hemorrhagic fever transmitted by blood transfusion. N. Engl. J. Med. 2008; 359(14): 1526-7.
6. Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Акиншина Ю.А., Хуторецкая Н.В., Бутенко А.М. За-возные случаи арбовирусных инфекций в Российской Федерации. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012; 1: 35-8.
7. Жибурт Е.Б., Мадзаев С.Р. Гемотрансмиссивные инфекции. Что нужно знать медсестре? Главная медицинская сестра. 2016; 4:72-82.
8. Губанова М.Н., Чемоданов И.Г., Гайворонская В.В., Аюпова Р.Ф., Кожемяко О.В., Аверьянов Е.Г., Мадзаев С.Р., Жибурт Е.Б. Инактивация патогенов в клеточных компонентах крови. Трансфузиология 2017; 3(18): 15-36.
9. Бахметьева С.В., Пуховская Н.М., Здановская Н.И., Иванов Л.И., Белозерова Н.Б., Уткина О.М. и др. Этиологическая расшифровка завозных случаев тропических лихорадок в Дальневосточном регионе. Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2014; 25: 91-3.
10. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.7.3107-13 "Профилактика лихорадки Западного Нила", утвержденные Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 09.10.2013 №52.
11. Жибурт Е.Б., Губанова М.Н., Кожемяко О.В., Шихмирзаев Т.А., Зарубин М.В. Зика-новый трансмиссивный вирус. Трансфузиология 2016; 2(17): 59-65.
12. FDA recommendations for donor screening, deferral, and product management to reduce the risk of transfusion-transmission of Zika virus. Available at: <https://www.fda.gov/files/vaccines,%20blood%20&%20biologics/published/Revised-Recommendations-for-Reducing-the-Risk-of-Zika-Virus-Transmission-by-Blood-and-Blood-Components-Guidance-for-Industry.pdf>.
13. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 10.02.2016 №14 "О мерах по недопущению распространения на территории Российской Федерации лихорадки Зика".

Лабораторная диагностика малярии

Кочина Е.А., Шальнова Е.Е.

Современные возможности и проблемы диагностики малярии

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород







Шальнова Е.Е., Кочина Е.А.

Актуальные аспекты лабораторной диагностики малярии у беременных

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Малярия во время беременности создает угрозу здоровью и жизни беременной женщины и плода. Инфекция оказывает неблагоприятное влияние на течение беременности, которая часто сопровождается различными осложнениями, а тропическая малярия нередко заканчивается летальным исходом. Летальность у беременных женщин в 2 раза выше, чем у небеременных. Характер последствий определяет срок беременности, на котором произошло заражение малярией. Наибольшую опасность инфекция представляет при заражении ею на ранних сроках вынашивания ребенка. Серьезную проблему в эндемичных по малярии регионах представляют такие осложнения у беременных как гемолитическая анемия, нефропатия, эклампсия и гипогликемия. Тяжелее инфекция протекает у первобеременных, чем у многорожавших женщин. Наиболее частым осложнением являются самопроизвольные аборт и преждевременные роды. Поскольку плацента не является барьером для малярийных плазмодиев, то вызываемые патологические изменения в структуре плаценты, паразиты могут инфицировать плод. Наиболее вероятно заражение плода при тропической малярии. При инфицировании женщины на ранних сроках беременности наиболее распространенным исходом является гибель плода, на поздних сроках – высока вероятность рождения недоношенных детей. Очень часто новорожденные имеют низкую массу тела при рождении и другие патологические изменения.

Для предупреждения тяжелых последствий малярии у беременных необходимо проведение ранней диагностики и специфической терапии противомаларийными препаратами. Лабораторные исследования играют решающую роль не только в постановке диагноза малярии, но в определении конечного исхода заболевания. В настоящем обзоре представлены научные исследования ряда зарубежных авторов с использованием различных современных лабораторных методов, направленных на улучшение ранней диагностики малярии во время беременности.

Duffy P.E., Fried M. из Института исследований им. Уолтера Рида (г. Вашингтон, США) отметили, что формы *P. falciparum*, связывающиеся с хондроитинсульфатом А (ХСА), у небеременных женщин появляются редко, тогда как у беременных они секвестрируются в плаценте для дальнейшего роста и развития [1]. Предположительно паразиты секвестрируются в сосудах плаценты по признаку способности связываться с ХСА и размножаются, достигая высокой численности. ХСА появляется на поверхности синцитиотрофобластов плаценты и является компонентом протеогликана, обнаруживаемого в плаценте. Антиадгезивные антитела к малярийным паразитам, связанным с ХСА, ассоциируются с защитой беременных женщин от малярии, но эти антитела появляются только после нескольких беременностей. Отсутствие этих антител, вероятно, является

основной причиной тяжелых форм малярии у первобеременных женщин, по сравнению с многорожавшими. Появление этих антител не зависит от штамма паразита. Ученые сделали заключение, что вакцина, созданная на основе этих антител, может быть эффективным средством профилактики малярии у беременных женщин.

Группа авторов из Малави (Rogerson S.J. и соавт.) проводила исследование для сравнения эффективности диагностики тропической малярии у беременных женщин при помощи метода микроскопии мазков периферической и плацентарной крови и гистологического исследования плаценты [2]. В исследовании приняли участие 464 женщины, у 124 (26,7%) из которых наблюдалась острая инвазия, а у 148 (31,9%) – малярия была диагностирована в прошлом. В ходе исследования авторы установили, что гистологический метод оказался более чувствительным (91%), чем микроскопия мазков периферической (47%) и плацентарной крови (63%). Кроме того, при гистологическом исследовании выявлены случаи инфекции перенесенной в прошлом (паст-инфекции). Лишь у небольшого числа женщин малярия была диагностирована при помощи микроскопического метода при отсутствии положительных гистологических результатов. У новорожденных детей, родившихся у женщин с положительными результатами гистологического исследования, обнаружены низкая масса тела и анемия. На основании полученных результатов авторы работы сделали вывод, что наиболее чувствительным методом для диагностики малярии у беременных женщин в момент рождения ребенка является гистологическое исследование плаценты.

Значительный интерес представляет работа Adam I. и соавт. о случаях субмикроскопической инвазии *P. falciparum* у беременных женщин одного из регионов Судана [3]. Авторы отметили, что отсутствуют крупные исследования и мало литературных данных о случаях малярии во время беременности у женщин, проживающих в регионах Африки к югу от Сахары, где интенсивность передачи малярии невысока, а также результатов исследований об обнаружении у беременных женщин субмикроскопической инвазии возбудителя тропической малярии. Свое исследование авторы проводили в период с августа 2003 г. по июль 2004 г. в г. Нью-Халфа (Восточный Судан), являющемся регионом с низким уровнем трансмиссии малярии. Основной целью исследования было оценить распространенность случаев выявления субмикроскопической инвазии *P. falciparum* для определения последствий таких инвазий на развитие анемии во время беременности. Мазки крови беременных женщин исследовали с использованием стандартного метода микроскопии. Параллельно образцы крови этих женщин исследовали при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием поверхностного протеина-2 мерозоитов *P. falciparum* как

полиморфного маркера. Из 142 обследованных беременных женщин паразиты в мазках крови были обнаружены у 17 (11,9%). В то же время в 40 случаях у женщин с отрицательной микроскопией мазка крови была получена положительная ПЦР (32%). Из этих 40 у 32 (80%) была обнаружена только FC 27 аллель (поверхностного протеина-2 мерозоитов), у 6 (15%) – только IC1 аллель и у 2 (5%) – обе эти аллели. По результатам проведенного исследования не выявлено статистически значимых различий по возрасту, числу родов в анамнезе, гестационному сроку беременности и концентрации гемоглобина в крови между группой беременных женщин с положительным результатом микроскопии и отрицательной ПЦР и группой женщин с субмикроскопической инвазией. Несмотря на это, авторы акцентируют внимание на том факте, что субмикроскопическая малярия у беременных может оказывать негативное воздействие на здоровье женщины-матери и плода.

Специалисты Национального института аллергии и инфекционных заболеваний (США) Fried M. и соавт. заостряют внимание на том, что малярию в период беременности (МБ) трудно распознать и диагностировать [4]. Во время беременности, паразиты обычно секвестрируются в плаценте, и при исследовании мазков периферической крови малярийные паразиты могут не обнаруживаться. Кроме того, у многих женщин инфекция часто протекает бессимптомно, особенно у проживающих в регионах с высоким уровнем трансмиссии малярии, у которых, несмотря на выраженные показатели системного иммунитета, регистрируются осложнения, в числе которых анемия беременных и задержка внутриутробного развития плода, что утяжеляет заболевание и может привести к летальному исходу. Авторы отмечают, что новые диагностические экспресс-тесты (ДЭТ) оказались перспективными для диагностики малярии у небеременных женщин, недавно они были одобрены FDA (Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств, США) для использования в США. Однако ДЭТ могут не обладать достаточной чувствительностью и специфичностью для диагностики МБ. В своем исследовании Fried M. и соавт. анализируют методы, использующиеся для обнаружения или диагностики МБ, такие как: микроскопия мазка крови, ДЭТ, методы на основе ПЦР, и наконец, метод гистологии плаценты, который часто упоминается в качестве "золотого стандарта" для использования в научных исследованиях и клинических испытаниях.

В 2013 году Takem E.N. и D'Alessandro U. из Гамбии обобщили результаты многолетнего наблюдения [5]. Их обзор содержит обновленную информацию о малярийной инфекции в период беременности, вызванной *P. falciparum* и *P. vivax*, собранную начиная с 2000 года. Представлены данные, касающиеся механизмов развития осложнений, методов диагностики, профилактики и лечения малярии у беременных. Авторы отмечают, что беременные женщины имеют более высокий риск заболевания малярией по сравнению с небеременными. Материнские факторы риска МБ включают: молодой возраст беременной женщины, низкий уровень паритета (небольшое число родов в анамнезе), и малый для гестационного возраста плод. Основные проявления МБ – анемия беременных, низкий вес плода (НВП) при рождении, самопроизвольный выкидыш на раннем сроке и высокий риск младенческой и материн-

ской смерти. Авторы данного исследования подтверждают ранее установленные данные, что эритроциты, инфицированные *P. falciparum*, секвестрируются в плаценте путем экспрессии поверхностных антигенов (вариант поверхностного антигена VAR2CSA), которые связываются со специфическими рецепторами, в основном ХСА. В эндемичных регионах, высокий риск восприимчивости к малярии у впервые забеременевших женщин можно объяснить нераспознаванием этих поверхностных антигенов иммунной системой. В последнее время плацентарная секвестрация была описана также для инфекций, вызываемых *P. vivax*. Механизм самопроизвольных выкидышей и внутриутробной задержки развития плода до сих пор неясен, но лихорадка (которая может спровоцировать выкидыш), анемия, и высокие уровни имеют существенное значение.

Клинические подозрения на МБ должны быть подтверждены результатами паразитологических методов диагностики. Чувствительность методов микроскопии и гистологического исследования плаценты, используемых в качестве "золотого стандарта" при исследовании мазков периферической и плацентарной крови у африканских женщин, инфицированных *P. falciparum*, составила соответственно 60 и 45%. По сравнению с микроскопией, ДЭТ имеют более низкую чувствительность, однако в случаях отрицательных результатов микроскопии, результаты ДЭТ могут быть более надежными.

В эндемичных регионах для снижения уровня заболеваемости малярией среди беременных рекомендовано использование противомоскитных сеток, обработанных инсектицидами (СОИ) и периодическое превентивное лечение (ППЛ). Было показано, что использование СОИ снижает уровень неблагоприятных исходов беременности на 28-47%.

Несмотря на проблемы, связанные с резистентностью к противомаларийным препаратам была показана важность использования эквивалентных доз соответствующих препаратов для ППЛ. Для лечения неосложненной малярии в первом триместре беременности применяют хинин в сочетании с клиндамицином в течение 7 дней, в качестве альтернативной схемы рассматривается прием артезуната в комбинации с клиндамицином в течение 7 дней; во втором и третьем триместре назначают комбинированную терапию, основанную на артемизинине (АКТ) - артезунат с клиндамицином или хинин с клиндамицином в течение 7 дней. Для лечения тяжелой малярии, во втором и третьем триместре предпочтительнее парентеральное применение артезуната вместо хинина. В первом триместре, можно применять как артезунат, так и хинин (парентерально). Тем не менее, лечение следует начинать незамедлительно, используя наиболее доступные препараты.

Коллективом ученых из различных клинических научных организаций Индонезии (Ahmed R. и соавт.) было проведено кросс-секционное исследование по оценке диагностической эффективности четырех комбинированных ДЭТ для определения HRP-2/ pLDH и метода микроскопии для использования их в качестве скрининговых тестов при проведении диагностики малярии у беременных [6]. Авторы констатируют, что малярия во время беременности является серьезной проблемой общественного здравоохранения Индонезии, и по оценкам, ежегодно около 6 миллионов беременных женщин подвержены риску заражения *P. falciparum* или *P. vivax*. В 2010 году в националь-

ную программу Индонезии по борьбе с малярией во время беременности было включено проведение скрининговых исследований в антенатальный (дородовой) период с использованием метода микроскопии или ДЭТ, основанных на методе иммунохроматографии, а также проведение лекарственной профилактики. Для сравнения эффективности четырех различных ДЭТ, используемых для экспресс-диагностики малярии в "полевых" условиях, авторами работы было проведено исследование крови преимущественно у асимптомных беременных женщин о. Сумба (Индонезия).

Скрининговое обследование беременных женщин на малярию проводили в рамках антенатальной программы с использованием метода микроскопии и четырех комбинированных ДЭТ для выявления антигенов, пригодных для иммунохроматографии–специфического белка HRP-2а и фермента pLDH (HRP-2а /pLDH) возбудителей малярии: (Carestart, First-Response, Parascreen и SD-Bioline). Полученные результаты ДЭТ сравнивали с результатами методов–микроскопии и "гнездовой" (nested) ПЦР, выбранных в качестве референтных. Окончательный вывод делали по совокупности результатов ДЭТ и данных опросника.

В целом в исследовании приняли участие 950 беременных женщин, 98,7% из них были клинически здоровыми (без симптомов малярии). Уровень распространенности малярии составил от 3,0 до 3,4% при использовании ДЭТ, 3,6%–при внелабораторном микроскопическом исследовании, 5,0%–при проведении микроскопии опытным экспертом и 6,6% при исследовании методом ПЦР. Средний уровень паразитемии был низким и составил 418 паразитов/мкл для *P. falciparum*, и для 147 паразитов/мкл –для *P. vivax*. По сравнению с ПЦР, средняя чувствительность ДЭТ и внелабораторной микроскопии для обнаружения всех видов малярийных плазмодиев составила от 24,6 до 31,1%; специфичность методов–более 98,4%. В отличие от ПЦР диагностический экспресс-тест First-Response показал лучшую диагностическую точность при обнаружении всех видов плазмодиев, его чувствительность составила 31,1%, специфичность–98,9% и диагностическое отношение шансов (ОШ)–39,0. Значения ОШ для тестов Carestart, Parascreen, SD-Bioline и микроскопии составили 23,4, 23,7, 23,5 и 29,2, соответственно. Чувствительность ПЦР для выявления Pap-pLDH при моноинфекции, вызванной *P. vivax*, составила от 8,6 до 13,0%. Чувствительность ПЦР для обнаружения специфического белка HRP-2а *P. falciparum* составила от 10,3 до 17,9%. Было установлено, что использование тест-системы для одновременного выяв-

ления белков HRP-2 и фермента Pap-pLDH малярийных плазмодиев повышает эффективность диагностики. Авторами исследования предпочтение было отдано тесту First-Response для использования в общей практике.

По результатам своей работы авторы сделали вывод о том, что среди тестов, предназначенных для выявления малярии, главным образом, среди асимптомных беременных женщин, у теста First-Response была отмечена несколько более высокая диагностическая точность и очевидная простота использования. Но в целом, различия в результатах четырех ДЭТ были незначительными, и по диагностической эффективности они были сравнимы с микроскопией. Использование комбинации ДЭТ является наиболее подходящей альтернативой микроскопии для лабораторной диагностики малярии во время беременности в сельских районах Индонезии. В дальнейших планах авторов данного исследования–изучение клинической значимости ПЦР для выявления малярийных плазмодиев у лиц с низким уровнем паразитемии в тех случаях, когда паразиты не могут быть обнаружены ДЭТ или методом микроскопии.

Таким образом, большинство современных разработок в данной области представляют несомненный интерес для достаточно широкого круга ученых и специалистов.

Литература.

1. Duffy P.E., Fried M. Malaria during pregnancy: parasites, antibodies and chondroitin sulphate A. *Biochem. Soc. Trans.* 1999 Aug; 27(4):478-82.
2. Rogerson S.J., Mkundika P., Kanjala M.K. Diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria at delivery: comparison of blood film preparation methods and of blood films with histology. *J. Clin. Microbiol.* 2003 Apr; 41(4):1370 - 1374.
3. Adam I., A-Elbasit I.E., Salih I., Elbashir M.I. Submicroscopic *Plasmodium falciparum* infections during pregnancy, in an area of Sudan with a low intensity of malaria transmission. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2005 Jun; 99(4):339-44.
4. Fried M., Muehlenbachs A., Duffy P.E. Diagnosing malaria in pregnancy: an update. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2012 Oct; 10(10): 1177-87.
5. Takem E.N., D'Alessandro U. Malaria in pregnancy. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 2013; 5(1):e2013010.
6. Ahmed R., Levy E.I., Maratina S.S., de Jong J.J., Asih P.B., Rozi I.E. et al. Performance of four HRP-2/pLDH combination rapid diagnostic tests and field microscopy as screening tests for malaria in pregnancy in Indonesia: a cross-sectional study. *Malar. J.* 2015 Oct 29; 14(1):420.

Кочина Е.А., Шальнова Е.Е.

Гемотранфузионная малярия: диагностические критерии и практические рекомендации

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

В связи с тем, что существует риск заражения малярией при переливании крови как в эндемичных, так и в неэндемичных по малярии странах, трансфузионная малярия (ТМ) является предметом особого внимания медицинской науки и практики. С учетом актуальности проблемы и для обеспечения максимальной безопасности донорской крови ученые разных стран постоянно проводят усовершенствование существующих и поиск новых более эффективных методов диагностики и современных подходов к предупреждению трансфузионного пути передачи инфекции. В рамках настоящего обзора представлен ряд работ зарубежных авторов, проводивших исследования в данном направлении.

Значительный интерес представляет экспериментальное исследование Dubey A. и соавт. из Северной Индии [1]. В связи с недостаточностью опубликованных данных о распространенности маркеров малярии у доноров крови и об уровне распространенности ТМ авторы изучали уровень распространенности противомаларийных (ПМ) антител у доноров крови и определяли риск развития ТМ у пациентов, получающих множественные трансфузии. Данное ретроспективное кросс-секционное исследование проводили совместно со специалистами отделения трансфузионной медицины, входящим в состав службы высокоспециализированных видов медицинской помощи штата Уттар-Прадеш на севере Индии, в период с октября 2006 г. по август 2008 г.

В исследование были включены допущенные к донорским доноры крови ($n=1000$), доноры, временно отстраненные от донорства из-за наличия лихорадки в анамнезе в течение последних 3-х месяцев ($n=100$), а также пациенты, получающие множественные гемотрансфузии ($n=200$).

Скрининговые исследования на малярию проводили при помощи метода микроскопии, диагностического экспресс-теста (ДЭТ) на основе иммунохроматографического анализа для определения малярийного антигена и иммуноферментного анализа (ИФА) для детекции ПМ антител. Для классификации эндемичности малярии по уровню распространенности ПМ антител в обследуемой группе населения использовали следующие критерии: гипоэндемичная (<10%), мезоэндемичная (11-50%), гиперэндемичная (51-75%) и голоэндемичная (>75%) [Chatterjee K.D., 1959].

По результатам исследования уровень распространенности ПМ антител у здоровых доноров, у доноров с лихорадкой в анамнезе, у пациентов с талассемией и других пациентов, получавших множественные трансфузии, составил 16,9, 22, 6 и 15%, соответственно. Общий уровень распространенности ПМ антител составил 17,4%, в связи с чем регион обследуемой популяции доноров был оценен как мезоэндемичный по малярии. Ни у одного из до-

норов не были выявлены возбудители малярии при микроскопическом исследовании мазков крови. ДЭТ, основанный на определении специфических белков малярийного плазмодия-паразитарной лактатдегидрогеназы (pLDH), показал отрицательный результат у всех доноров крови, за исключением одного-с наличием лихорадки в анамнезе.

Исследователи отметили высокий уровень распространенности ПМ антител в популяции доноров крови данного исследования. Однако авторы считают неприемлемым отбраковывание донорской крови только на основании положительного результата ПМ антител. В связи с этим, они приводят результаты исследований других авторов [Oh J.S., 2008], которые проводили детекцию ПМ антител к *P. vivax* при помощи ИФА тест-системы (специфичность составила 94,0%), а в качестве референтного метода использовали ПЦР.

Dubey A. и соавт. считают целесообразными разработку и внедрение в практическое здравоохранение дополнительных высокотехнологичных методов анализа для снижения риска развития ТМ и обеспечения безопасности донорской крови [1].

Малярия является одной из ведущих причин смерти населения южных регионов государства Бенин (Западная Африка). Особую проблему тропическая малярия, вызываемая *P. falciparum*, представляет для беременных женщин и детей при трансфузиях донорской крови в критических ситуациях. Atchade P.S. и соавт. свое исследование проводили с целью сравнения эффективности различных методов скрининга малярии у доноров крови из южных областей Бенина, являющихся эндемичными по малярии [2].

Для исследования на протяжении 10 месяцев забирали образцы крови от 2515 добровольных доноров (из них 2025 мужчин и 490 женщин). Все образцы крови классифицировали в зависимости от сезона, в который они были получены: длительный сезон дождей, короткий сухой сезон, короткий сезон дождей и длительный сухой сезон. Для подсчета числа паразитов проводили микроскопическое исследование. Определяли уровень паразитемии по количеству плазмодиев в 1 мкл крови. Специфический антиген *P. falciparum* pLDH определяли при помощи антигенного ИФА-теста. С использованием растворимых неочищенных антигенов *P. falciparum* в антительном ИФА-тесте детектировали антитела к возбудителю малярии *P. falciparum*.

По данным авторов исследования частота бессимптомной трансмиссии *P. falciparum* составила 295/2515 (11,72%, 95% ДИ: 10,5-13,1). Среди доноров-мужчин отмечен более высокий уровень малярийной инфекции (12,4%), чем у доноров-женщин (8,8%). Выявлен очень низкий уровень паразитемии: от 7 до 100 паразитов в 1 мкл крови у 80% доноров. Были идентифицированы три вида *Plasmodium*: *P. falciparum* у 280/295 доноров (95,0%),

P. malariae в 14/295 (5,0%) и *P. ovale* в 1/295 (0,34%). В ходе исследования было установлено, что уровень распространенности малярии оказался выше в сезон дождей (13,7%), чем в сухие сезоны (9,9%). Использование высокочувствительного теста позволило детектировать рLDH в 966 случаях из 2515 (38,4%; 95% ДИ: 36,5–40,3). Уровень распространенности ПМ антител составил 1,859/2515 (73,9%; 95% ДИ: 72,16–75,6). Уровни антигенемии и ПМ антител у доноров крови значительно различались ($p < 0,05$) в течение четырех сезонов. Самый высокий показатель антигенемии—323/630 (51,3%) отмечен в период короткого сезона дождей, а самый высокий уровень распространенности антител—751/886 (84,7%) зарегистрирован в период длительного сухого сезона.

Исследователи отметили, что методы диагностики малярии в настоящее время доступны, но преобладающими являются критерии экономической целесообразности проведения массового скрининга в эндемичных районах. По мнению авторов, выявление специфического антигена рLDH, являющегося признаком наличия паразитов, является подходящим диагностическим инструментом для скрининговых исследований в эндемичных регионах. Рутинный скрининг всей донорской крови позволит обеспечить безопасность гемотрансфузий и снизить уровень передачи тропической малярии, особенно у таких категорий пациентов, как дети и беременные женщины. Он позволит сократить расходы на медицинскую профилактику среди реципиентов крови, а также будет способствовать снижению резистентности *P. falciparum*.

В Бразилии, малярия является эндемичным заболеванием в регионе бассейна реки Амазонки и неэндемичной на территории, расположенной вне бассейна реки Амазонки, которая включает районы штата Сан-Паулу. С учетом этих особенностей, ежегодно регистрируются автохтонные (местные) случаи заболевания малярией, однако опубликованных данных о распространенности субклинической формы инфекции недостаточно. Бессимптомные формы инфекции могут оставаться незамеченными, поддерживая передачу возбудителя, в том числе при трансфузии крови. Описаны случаи субклинической малярийной инфекции у доноров крови центра переливания крови в Сан-Паулу, Бразилия.

Коллективом специалистов из Бразилии (Maselli L.M. и соавт.) было проведено кросс-секционное исследование репрезентативных выборок образцов крови от 1108 здоровых доноров крови из Гемоцентра Сан-Паулу, главного центра переливания крови в штате [3]. Для обнаружения возбудителей малярии *P. falciparum* и *P. vivax* авторы использовали ПЦР в реальном времени. Определяли территориальную привязку автохтонных субклинических случаев малярии (районы тропических лесов и нелесные территории).

По результатам исследования образцов крови доноров в 84 (7,41%) случаях выявлен положительный результат на малярийные плазмодии; у 57 доноров обнаружен *P. falciparum*, у 25 человек—*P. vivax*, а в 2 случаях—оба вида. Уровень распространенности *P. falciparum* и *P. vivax* составил 5,14 и 2,26, соответственно. Общий коэффициент распространенности (КР) составил 3,23 (95% ДИ 2,03; 5,13); для *P. falciparum* КР составил 16,11 (95% ДИ 5,87, 44,21) и для *P. vivax* КР составил 0,47 (95% ДИ 0,2; 1,12). Субклиническая форма малярийной инфекции, вызванной *P. falcipa-*

rum, зарегистрирована в горных районах Атлантического леса, в то время как инфекция, вызванная *P. vivax* обнаружена на территории городов, окруженных лесами. Таким образом, исследователями была установлена территориальная привязка малярийной инфекции, вызванной *P. falciparum*, к лесной среде, а инфекция, вызванная *P. vivax* была связана с фрагментарностью лесных массивов.

Авторы сделали вывод, что выявление малярийных плазмодиев у здоровых доноров крови неэндемичных регионов имеет большое значение в плане биологической безопасности гемотрансфузий. Инфицированные реципиенты могут быть бессимптомными носителями и резервуаром паразитов, поддерживающими их передачу.

Заслуживает внимания исследование Wang Z.Y. и соавт., описавших единичный случай четырехдневной малярии неясного генеза у пациента одного из стационаров г. Шанхай [4]. Исследователи провели клинико-эпидемиологический анализ, в ходе которого было установлено, что пациент не посещал эндемичных по малярии регионов, ранее малярией не болел, но получил массивную гемотрансфузию во время хирургической операции. Пациенту переливали кровь от трех доноров. Образцы крови пациента и доноров крови авторы исследовали при помощи микроскопического метода, ДЭТ и метода "гнездовой" ПЦР. По результатам микроскопического исследования мазков крови пациенту был поставлен диагноз четырехдневной малярии, вызываемой *P. malariae*. А при исследовании перечисленными методами образцов крови доноров малярийная инфекция не была выявлена. Однако при использовании усовершенствованного метода мультиплексной "гнездовой" ПЦР у пациента и одного из доноров обнаружена 100% гомология нуклеотидной последовательности ДНК *P. malariae*. В связи с этим, был подтвержден гемотрансфузионный путь заражения пациента малярией.

По результатам проведенного исследования авторы пришли к выводу, что при проведении лабораторной диагностики случаев малярии неясного генеза необходимо использовать различные методы; усовершенствованный метод мультиплексной "гнездовой" ПЦР позволяет эффективно диагностировать малярию с низким уровнем паразитемии.

Olawumi H.O. и соавт. из Нигерии опубликовали данные своего исследования по изучению уровня распространенности малярийной паразитемии среди доноров крови в г. Илорин, а также социально-демографических и других факторов, связанных с этой инфекцией [5]. Они провели кросс-секционное исследование, в котором приняли участие 308 добровольных доноров крови. Социально-демографические характеристики участников, а также сведения анамнеза доноров получали из данных структурированных вопросников. Для обнаружения малярийных плазмодиев использовали стандартную микроскопию толстых и тонких мазков крови, окрашенных по методу Гимза. Определение групп крови по системе АВО и тест "электрофорез гемоглобина" также выполняли с использованием стандартных методов.

В ходе данного исследования уровень распространенности малярийной паразитемии среди доноров крови в г. Илорин составил 27,3%. Чаще идентифицировали *P. falciparum* (85,7%), чем *P. malariae* (14,3%). У доноров с наличием паразитемии не было выявлено статистически значимых различий по возрасту или полу ($p=0,8$ и $p=0,32$,

соответственно). Паразитемия чаще регистрировалась у доноров с группой крови O, чем у лиц с группами крови A и B, но это различие не было статистически значимым ($p=0,13$). Также не было обнаружено значимых различий по типам гемоглобина.

По итогам исследования авторы констатировали, что уровень распространенности малярийной паразитемии среди доноров крови в г. Илорин достаточно высок, и отсутствие рутинного скрининга крови ставит под угрозу здоровье реципиентов крови. Они рекомендовали внедрять скрининг на малярию в рутинную лабораторную практику, начиная с банков крови, а также применять в банках крови меры по обеззараживанию донорской крови до ее трансфузии пациентам при помощи рибофлавина и воздействия УФ-излучения для инактивации малярийных паразитов и других инфекционных патогенов.

Elyamany G. и соавт. из Саудовской Аравии провели исследование по оценке используемых методов скрининга на малярию среди доноров неэндемичных регионов государства [6]. Авторы отметили, что в Саудовской Аравии—стране неэндемичной по малярии, регистрируется очень низкий уровень заболеваемости малярией. Однако зарегистрированы случаи малярии в провинциях Асир и Джазан, расположенных вдоль юго-западной границы с Йеменом. Зарегистрированы также завозные случаи малярии. Исследователи определяли уровень распространенности малярии среди доноров крови госпиталя высокоспециализированной медицинской помощи в центральной части Саудовской Аравии, а также оценивали эффективность методов скрининга малярии, используемых службами переливания крови.

В данном исследовании приняли участие 180 000 доноров, сдававших кровь в период 2006–2015 гг. Все препараты крови доноров, окрашенные по методу Гимзы, исследовали с использованием микроскопов малой и высокой мощности, и с применением масляно-иммерсионных объективов. Из общего числа 180 000 доноров крови, обследованных на малярию, 156 000 (87%) доноров являлись гражданами Саудовской Аравии, а 23 400 (13%) человек не были гражданами этой страны. Средний возраст участников составил 32 года (диапазон от 18 до 65 лет), половой состав: 97%—мужчины и 3%—женщины. При проведении скрининга на малярию с использованием метода микроскопии, показатель распространенности малярии в исследуемой популяции оказался равным нулю.

На основании полученных данных авторы пришли к выводу, что применяемый в настоящее время метод скрининга малярии у доноров крови не приемлем в случаях низкого уровня паразитемии. Скрининг, проводимый с использованием метода микроскопии, авторы предложили дополнить иммунологическими и молекулярными методами исследования.

Поскольку настоящий обзор посвящен использованию тех или иных методов скрининга донорской крови на малярию, внимание специалистов лабораторной службы необходимо обратить на то, что согласно рекомендациям ВОЗ, выбор метода скрининга будет зависеть от того, яв-

ляется ли регион эндемичным по малярии или нет [7]. Методы, используемые для определения наличия малярии, ориентированы на следующие мишени для скрининга: прямое определение паразита в толстой капле крови и определение серологических маркеров (антител и антигенов).

В эндемичных регионах, наряду с микроскопическим определением паразитов, в настоящее время широко доступны высококачественные и чувствительные ИФА-тесты для антигенного анализа на (при низких уровнях паразитемии). Вместе с тем, в эндемичных странах стратегии организации и внедрения скрининга на малярию, как правило, носят комплексный характер и предусматривают сочетание определенных критериев для отбора доноров и их отстранения от донорства с учетом времени года, географического положения и доступности средств профилактики малярии, включая лабораторный скрининг.

В неэндемичных регионах эффективным методом скрининга донаций от лиц, относящихся к группе риска по передаче малярии, является выявление специфических антител при помощи ИФА. Практически во всех случаях такие меры, как временное отстранение от донорства на период до шести месяцев с даты последнего потенциального контакта с заразным началом и тестирование на антитела к малярии, позволят предотвратить передачу малярии.

Литература.

1. Dubey A., Elhence P., Ghoshal U., Verma A. Seroprevalence of malaria in blood donors and multi-transfused patients in Northern India: relevance to prevention of transfusion-transmissible malaria. *Asian. J. Transfus. Sci.* 2012; 6(2):174-8.
2. Atchade P.S., Doderer-Lang C., Chabi N., Perrotey S., Abdelrahman T., Akpovi C.D. et al. Is a Plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH) enzyme-linked immunosorbent (ELISA)-based assay a valid tool for detecting risky malaria blood donations in Africa? *Malar. J.* 2013 Aug 8; 12:279.
3. Maselli L.M., Levy D., Laporta G.Z., Monteiro A.M., Fukuya L.A., Ferreira-da-Cruz M.F. et al. Detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* subclinical infection in non-endemic region: implications for blood transfusion and malaria epidemiology. *Malar. J.* 2014 Jun 6; 13:224.
4. Wang Z.Y., Zhang Y.G., Jiang L., Li M., Zhu M., Cal Li. Laboratory analysis and diagnosis of one transfusion-transmitted quartan malaria case in Shanghai City. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi.* 2015 Aug; 27(4):362-6.
5. Olawumi H.O., Fadeyi A., Babatunde S.K., Akanbi A.A., Babatunde A.S., Sani M.A. et al. Malaria parasitaemia among blood donors in Ilorin, Nigeria. *Afr. J. Infect. Dis.* 2015; 9 (1):10-3
6. Elyamany G., Al Gharawi A., Alrasheed M., Alsuhailani O. Blood donors screening for malaria in non-endemic area in the Kingdom of Saudi Arabia: is it necessary to introduce immunological testing? *Electron. Physician.* 2016 Feb 25; 8 (2):2001-2005.
7. Всемирная Организация Здравоохранения. Скрининг донорской крови на гемотрансмиссивные инфекции. Рекомендации. 2010. http://www.who.int/bloodsafety/publications/bts_screendondbloodtransf/ru/

Вопросы качества лабораторных исследований

Залесских Н.В., Голубева И.Ф., Кокорева М.Н., Макарова Д.В., Сивилева Т.В.

Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе

Приводим выдержки из информационных материалов, подготовленных сотрудниками ООО "НПО "Диагностические системы"

Метод иммуноферментного анализа (ИФА) основан на высокой избирательности и специфичности иммунологической реакции антиген-антитело. ИФА применяется для определения наличия антигенов в сыворотке крови, серологического профиля антител, а также определения уровня различных гормонов. Надежность метода характеризуется его специфичностью, чувствительностью, а также правильностью и воспроизводимостью результатов исследования. Обязательным требованием к диагностическим лабораторным исследованиям является достоверность получаемых результатов. Поэтому обязательное условие надежной аналитической работы клинико-диагностических лабораторий - это контроль качества проводимых исследований. Рекомендации Международной организации стандартизации (ISO) и нормативные документы Российской Федерации в сфере здравоохранения (приказы Минздрава России, Государственные стандарты в области лабораторной медицины) предусматривают условия обеспечения качества всех этапов лабораторных исследований. Для полноценного осуществления всей программы по контролю качества необходимо выполнять предписания приказов Минздрава России от 07.02.2000 г. № 45 "О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации" и от 26.05.2003 г. № 220 "Об утверждении отраслевого стандарта "Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов" (ОСТ 91500.13.0001-2003)". При проведении внутрилабораторного контроля качества необходимо также руководствоваться ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002 "Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений". В каждой клинико-диагностической лаборатории (КДЛ) необходимо последовательно формировать систему обеспечения качества лабораторных исследований. Если такая система в КДЛ отсутствует или не достаточно эффективна, можно утверждать, что деятельность такой лаборатории в лучшем случае бесполезна - врачи не будут использовать в своей работе ее результаты, а в худшем случае вредна - на основании недостоверной информации врачи могут поставить неправильный диагноз и проводить неэффективное лечение. Поскольку результатом лабораторного

исследования является информация, то качество этой информации должно характеризоваться степенью соответствия достоверности результата лабораторного исследования тем целям, для которых это исследование выполнялось. Следовательно, целью работы КДЛ является предоставление достоверной информации, на основании которой врач-клиницист может оценить состояние пациента и принять решение о проведении того или иного лечения.

Качество и надежность результатов лабораторных исследований, несомненно, являются важными факторами. Однако качество и надежность достигаются не случайно, а исключительно посредством четко отлаженной и правильной организации всех взаимосвязанных этапов работы. Недостаточно оптимизации лишь одного этапа; для того, чтобы добиться наивысшего общего качества исследований, все этапы процесса лабораторной диагностики должны быть скоординированы. Только при хорошей организации и качественном проведении всех стадий лабораторного исследования можно рассчитывать, что каждый производимый лабораторией результат, представленный в авторизованном отчете, может быть использован врачом для принятия диагностических решений или решений, изменяющих схему лечения.

Как известно, процедура лабораторного исследования подразделяется на преаналитический, аналитический и постаналитический этапы. Любая выполняемая в лаборатории процедура измерения включает целый ряд шагов - подготовка проб и реагентов, дозирование, инкубация, измерение оптической плотности и т.д., при этом на каждом из них может произойти ошибка, которая влияет на конечный результат. Результат измерения, таким образом, содержит вклады всех этих ошибок.

Ошибки, возникающие на разных этапах лабораторного анализа:

- 1) Ошибки преаналитического этапа - связаны с подготовкой пациента, взятием пробы, ее транспортировкой и хранением, подготовкой пробы к исследованию;
- 2) Аналитические ошибки, т. е. ошибки, возникающие в процессе проведения анализа;
- 3) Ошибки, обусловленные постаналитическим этапом и связанные с возможным искажением полученных результатов.

В таблице приведены возможные причины ошибок при проведении ИФА и способы их устранения.

Причины ошибок в ИФА и меры их устранения

№ п/п	Результат ошибки	Причины	Способ устранения
1.	Занижение сигнала ОП исследуемых образцов, контрольных образцов или калибровочных проб	Уменьшенное время инкубации с конъюгатом и/или субстратной смесью	Точно выдерживать время инкубации, указанное в инструкции к набору
		Компоненты набора и/или исследуемые образцы перед использованием не прогреты до комнатной температуры	Перед использованием набор необходимо выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут
		Несоблюдение температурного режима при хранении набора	Хранить наборы в холодильнике при 2-8°C
		Заниженный температурный режим при инкубациях в термостате/шейкере	Регулярно проверять температуру в термостате и шейкере
		Недостаточно полная аспирация после отмывки: на дне лунок имеются остатки промывающего раствора	Отрегулировать параметры аспирации, следить за работой промывочного устройства; подвергать метрологическому контролю в установленные сроки
		Длительное нахождение планшета на воздухе между этапами реакции, излишнее высыхание лунок	Заранее готовить компоненты для следующего этапа реакции. Внесение растворов производить быстро. Не допускать больших пауз между шагами процедуры при постановке на автоматическом анализаторе
		- Использование реагентов из других наборов или другой серии; - Истечение срока годности компонентов; - Низкая температура в лаборатории (ниже 20°C)	Не использовать для анализа реагенты из других наборов или другой серии, а также с истекшим сроком годности
Ошибки в работе спектрофотометра	Контролировать работу спектрофотометра; в установленные сроки проводить метрологический контроль		
2.	Увеличение сигнала ОП во всех лунках планшета (повышенный фон) или увеличение ОП исследуемых образцов, контрольных образцов или калибровочных проб	Количество вносимого в лунки промывающего раствора меньше нормы. Верхняя часть лунок не промывается	Установить в программе промывочного устройства значение количества вносимого в лунки промывающего раствора, указанное в инструкции
		Недостаточно полная аспирация после отмывки: на дне лунок имеются остатки промывающего раствора	Отрегулировать параметры аспирации, следить за работой промывочного устройства; подвергать метрологическому контролю в установленные сроки
		Загрязнение субстратной смеси вследствие использования многоразовой емкости или воздействия прямых солнечных лучей	Использовать только одноразовые емкости
		Недостаточное время отстаивания образцов сыворотки крови перед анализом	Сыворотку следует отбирать после отстаивания крови в термостате (37°C) через 0,5-1 часа. Чистой сухой стеклянной палочкой сгусток крови нужно осторожно отделить от стенок пробирки. Рекомендуется центрифугировать образец при +4°C, со скоростью вращения 500–1000 g (1500 - 3000 об./мин) не более 15–20 минут
		Увеличение времени инкубации с субстратной смесью или конъюгатом	Точно выдерживать время инкубации, указанное в инструкции по применению
		Температура в лаборатории выше 25-30°C	Поддерживать постоянство параметров температуры и влажности в помещении лаборатории

№ п/п	Результат ошибки	Причины	Способ устранения
3.	Низкая воспроизводимость результатов измерений	Сбой в работе промывающего устройства	Следить за работой промывочного устройства - подвергать метрологическому контролю в установленные сроки
		- Ошибки при внесении исследуемых образцов и реагентов; - Недостаточное перемешивание образцов, реагентов или содержимого лунок планшета; - Повреждение поверхности лунки наконечником; - Пузырьки воздуха в лунках	Изучить технику пипетирования по инструкции, прилагаемой к дозаторам
		Увеличение ОП по краю планшета вследствие неравномерного нагревания или инкубации с субстратным раствором на свету	Поддерживать постоянство параметров температуры и влажности в помещении лаборатории
		- Использование дозаторов, не прошедших калибровку; - Неправильная техника пипетирования	Следить за работой дозаторов; подвергать метрологическому контролю в установленные сроки
		Длительное нахождение планшета на воздухе между этапами реакции, излишнее высыхание лунок	Заранее готовить компоненты для следующего этапа реакции. Внесение растворов производить быстро. Не допускать больших пауз между шагами процедуры при постановке на автоматическом анализаторе
4.	Полное отсутствие окраски после реакции	- Не внесен конъюгат или раствор субстрата; - В раствор субстратного буфера не внесен ТМБ; - Перепутаны реагенты, вносимые на разных этапах реакции; - Пропуск одной из стадий постановки анализа	Перечитать инструкцию к набору и точно следовать всем пунктам постановки анализа
		Использование реагентов из других наборов	Использовать только реагенты, относящиеся к набору

Политика нашего предприятия – это достижение отличного качества нашей продукции, конкурентоспособной на мировом рынке. В ООО "НПО "Диагностические системы" внедрены правила GMP ("Good manufacturing practice" – "Правила хорошего производства") и производство полностью перешло на эти технологии в 2006 году. Целью деятельности отдела биологического и технологического контроля является обеспечение отличного качества нашей продукции её безопасности и эффективности.

Мы строго соблюдаем отраслевые стандарты и международные требования. Любая деятельность, результаты которой влияют на качество продукции, всегда выполняется при строгом соблюдении принципов международных стандартов по производству и реализации медицинских изделий.

Однозначно и точно разработанная документация дает возможность отслеживать качество выпускаемой продукции и обнаруживать возможные ошибки.

Система менеджмента качества ООО "НПО "Диагностические системы" соответствует требованиям нормативных документов ИСО 13485:2011 "Изделия медицинские системы менеджмента качества. Системные требования для целей регулирования", введен в действие 01.01.2013 г.

Внедренная система управления качеством производства диагностических тест-систем определяет всю деятельность организации, как единый процесс, каждый элемент которого подробно описан и обязателен для выполнения. Данная система позволяет выявлять и устранять ошибки, постоянно повышая качество выпускаемой продукции. Главной особенностью системы качества является пошаговый контроль всех этапов производства продукции и ориентирование на удовлетворенность потребителя. Отдел биологического и технологического контроля строго следует основному принципу политики предприятия в области качества "Только путем постоянного повышения качества своей продукции мы можем удовлетворить потребности наших потребителей", что и должно обеспечить успех деятельности ООО "НПО "Диагностические системы".

Потребители нашей продукции всегда могут рассчитывать на профессиональные консультации специалистов и безотлагательную реакцию на все вопросы, касающиеся качества готовой продукции. В случае возникновения вопросов по продукту потребители могут обратиться в службу поддержки: help-ds@npods.ru, (831) 467-82-15 (добавочный 7655, 7647), бесплатная линия связи 8-800-555-03-00.

**Наборы реагентов производства ООО "НПО "Диагностические системы"
для проведения внутреннего и внешнего контроля качества работы диагностических лабораторий
и входного контроля работы тест-систем**

Наименование наборов реагентов	Номер по каталогу	Состав наборов	Срок годности
ДС-ВЛК-НВsAg Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие НВsAg	B-1431	24 флакона по 0,5 мл	5 лет
ДС-СО-НВsAg Стандартный образец НВsAg для оценки чувствительности иммуноферментных тест-систем на стадиях производства и выпуска, для научно-производственных целей, внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий, а также для количественного определения НВsAg в исследуемой сыворотке (плазме) крови человека методом ИФА.	B-0350	1 флакон – стандартный образец 9 флаконов с отрицательными образцами	5 лет
ДС-ВЛК-АНТИ-НСV Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие антител к вирусу гепатита С.	C-731	24 флакона по 0,3 мл	5 лет
ДС-Стандартная панель анти- НCV Стандартная панель сывороток содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С. Предназначена для контроля чувствительности и специфичности иммуноферментных тест-систем, выявляющих антитела к вирусу гепатита С, может быть использована для научно-производственных целей, а также для внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий.	C-0380	20 флаконов с положительными образцами; 8 флаконов с отрицательными образцами	5 лет
ДС-ВЛК-ВИЧ Ag (p24) Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие антигена p24 ВИЧ-1.	I-931	24 флакона	5 лет
ДС-ВЛК-АНТИ-ВИЧ-1 Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие антител к ВИЧ-1.	I-831	24 флакона	5 лет
Стандарт ВИЧ-1 АТ (+) Стандартная панель сывороток содержащих антитела к ВИЧ-1. Предназначена для проведения входного контроля тест-систем, выявляющих антитела к ВИЧ-1, методом ИФА, а также методом иммунного блотинга.	I-1620	16 флаконов	5 лет
Стандарт ВИЧ-2 АТ (+) Стандартная панель сывороток содержащих антитела к ВИЧ-2. Предназначена для проведения входного контроля тест-систем, выявляющих антитела к ВИЧ-2 методом ИФА, а также методом иммунного блотинга.	I-1970	8 флаконов	5 лет
Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+) Стандартный биологический материал, содержащий антиген p24 ВИЧ-1. Предназначен для оценки чувствительности иммуноферментных тест-систем, выявляющих антиген p24 (ВИЧ-1); для контроля тест-систем на стадиях производства и выпуска; для научно-производственных целей, внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий, а также для количественного определения p24 ВИЧ-1 в исследуемой сыворотке (плазме) крови человека методом ИФА.	I-1030	11 флаконов (Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+) в одной концентрации – 1 фл. Реагент 1–10 фл.)	5 лет
	I-1032.2	10 флаконов (Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+) в различных концентрациях, по одному флакону каждой концентрации)	
Стандарт ВИЧ-1,2 АТ (-), ВИЧ-1 АГ p24 (-) Стандартная панель сывороток, не содержащих антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антиген p24 ВИЧ-1. "Стандарт ВИЧ-1,2 АТ(-), ВИЧ-1 АГ p24(-)" предназначен для контроля специфичности иммуноферментных тест-систем, выявляющих антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антиген p24 ВИЧ-1, может быть использован для научно-производственных целей, для контроля качества работы диагностических лабораторий, а также для входного контроля тест-систем, выявляющих маркеры ВИЧ-инфекции методами ИФА и иммунного блотинга.	I-1610	20 флаконов	5 лет
ДС-ВЛК-АНТИ-ЛЮИС Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на антитела к <i>T. pallidum</i> при постановке ИФА.	L-531	24 флакона	5 лет

МУК 4.2.3222-14.4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов. Методические указания. (утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 22.09.2014 г.)

Настоящие методические указания наряду с микроскопическим методом, являющимся "золотым" стандартом лабораторной диагностики малярии, впервые регламентируют дополнительное использование иммунохроматографического (экспресс-тесты) и молекулярно-генетического (ПЦР) методов.

Приводим извлечения из документа, касающиеся применения этих непрямых методов лабораторной диагностики малярии, опуская подробную технику паразитологических исследований.

"Возможность завоза малярии на территорию Российской Федерации, появление вторичных от завозных, а также местных случаев заболевания требует своевременной лабораторной диагностики, необходимой для лечения и рационального проведения противоэпидемических мероприятий.

Неспецифические клинические проявления малярии, преимущественно в первые дни болезни, при наличии ряда объективных показателей эпидемиологического характера (географический анамнез—пребывание на территории стран с тропическим и субтропическим климатом) и клинического характера (лихорадочное состояние неясной этиологии, анемия, увеличение селезенки) обязывают врачей лечебно-профилактических организаций заподозрить малярию. Безусловным подтверждением диагноза служит обнаружение малярийного паразита при микроскопическом исследовании крови. Особое значение имеет раннее выявление возбудителя тропической малярии, при несвоевременной диагностике которой возможен летальный исход. Определение вида паразита служит основанием для выбора рациональной терапии и правильной организации противоэпидемических мероприятий.

Диагностика возбудителей бабезиозов вводится в целях дифференциальной диагностики с возбудителями малярии, в частности, с *P. falciparum*. Поскольку, несмотря на различия в жизненном цикле возбудителей малярии и бабезиозов, они имеют ряд близких особенностей по морфологии некоторых стадий развития возбудителей в эритроцитах и по клиническим проявлениям инфекции. Ошибочная диагностика может привести к летальному исходу.

3. Методы лабораторной диагностики малярии и бабезиозов

Диагностика малярии основана на обнаружении кровяных форм паразитов (трофозоиты, шизонты и гаметоциты) при микроскопическом исследовании крови. В настоящее время не предложено способов обнаружения гипнозоитов: ни иммунологических, ни паразитологических. Для обнаружения эритроцитарных форм плазмодиев и определения их вида используют препараты крови, приготовленные методом тонкого мазка и толстой капли, окрашенные по методу Романовского-Гимзы. Оба метода, имеющие свои преимущества и недостатки, являются взаимодополняющими.

Основной метод—толстая капля. В толстой капле фор-

менные элементы располагаются многослойно. В результате за один и тот же промежуток времени просматривается количество крови в 30-40 раз большее, чем в тонком мазке, что значительно повышает шанс обнаружения паразитов, особенно при низкой паразитемии. Чувствительность метода толстой капли такова, что при просмотре 100 полей зрения можно обнаружить паразитов при их численности около 8 в 1 мкл крови. Начинать надо всегда с просмотра толстой капли.

Толстую каплю окрашивают нефиксированной; это приводит к гемолизу эритроцитов, в результате чего паразиты становятся доступными для выявления. Однако при этом паразиты подвергаются деформации.

Толстая капля может позволить выявить и других паразитов крови: бабезий, трипаносом, микрофилярий, спирохет. В тонком мазке, фиксированном до окраски, сохраняются морфологические особенности, присущие данному виду паразита, и характерные изменения пораженного эритроцита. Тонкий мазок крови делают в дополнение к толстой капле.

Дифференциальное определение вида малярийного паразита проводят по совокупности признаков: морфологии паразита, состоянию пораженных эритроцитов, соотношению стадий паразита, обнаруженных в периферической крови.

Кроме того, в настоящее время широко используются для лабораторной диагностики малярии иммунологические (экспресс-тесты) и молекулярно-биологические методы. Данные методы являются взаимодополняющими, но "золотым" стандартом остается метод микроскопии толстой капли.

Основным методом диагностики бабезиозов является микроскопическое исследование препаратов крови—толстой капли и тонкого мазка. Однако при диагностике инфекции *B. microti*, характеризующейся низкой или субмикроскопической паразитемией, одна микроскопия при отрицательном результате может создать ложное представление, поэтому применяют и другие методы. Проводится иммунологическое исследование для обнаружения специфических антител с применением иммунофлюоресцентной методики (РИФ), а также молекулярно-биологическим методом—полимеразной цепной реакцией (ПЦР), позволяющей выявить единичные особи паразита. Для выявления низкой и субмикроскопической паразитемии проводится заражение хомяков кровью больного—изодиагностика; заболевание хомяков наступает спустя 1–4 недели.

6. Иммунохроматография в лабораторной диагностике (экспресс-тесты)

Микроскопические методы в их классическом варианте остаются основными в диагностике малярии, "золотым стандартом". Однако микроскопия - сравнительно трудоемкий метод, который требует квалифицированного персонала, специального оборудования и реактивов.

Недостатки обычной микроскопии: большое время обучения; не все обнаруживают способности к занятию микроскопией; требуется лаборатория; необходим тщательный контроль за работниками.

В связи с этим появилась необходимость разработки экспресс-тестов, которые не требовали бы высокого профессионализма и лабораторного оборудования. Они известны под аббревиатурой RDT = Rapid Diagnostic Tests. Эти тесты простые; не требуют специального оборудования и долгого обучения.

Экспресс-тесты основаны на методе тонкослойной иммунохроматографии. Имеющиеся в продаже тесты можно разделить на три группы:

1. Тесты, дающие ответ в отношении *P. falciparum*: есть/нет. Эти тесты не реагируют на присутствие гаметоцитов и дадут отрицательный результат, если бесполок форм не имеется.

2. Тесты, дающие ответ в отношении *P. falciparum*: есть/нет, а также указывающие, есть ли какой-то другой вид, без видовой расшифровки.

3. Тесты, дающие диагноз до вида.

Недостатки экспресс-тестов заключаются в том, что они менее чувствительны, чем микроскопия: для положительной реакции требуется не менее 200 паразитов/мкл, а вполне надежны эти тесты бывают лишь при паразитемии примерно от 2000 паразитов/мкл; быстро теряют свойства при хранении при температуре выше 30°C; менее информативны: не выявляют гаметоцитов *P. falciparum* и не определяют уровень паразитемии; тесты продолжают давать положительный результат и после исчезновения паразитов (до двух недель). Иными словами, тест реагирует не только на живых паразитов, но и на их останки. Поэтому экспресс-тесты нельзя использовать для мониторинга хода лечения.

Экспресс-тесты разрабатывались прежде всего для удовлетворения нужд населения, живущего в эндемичных районах, вдали от лабораторий. Для российских контингентов потребность в экспресс-тестах возникает в следующих условиях: группы соотечественников и отдельные лица, находящиеся в отдаленных районах тропиков по служебным надобностям или в туристических целях; авиапассажиры и персонал авиалиний на рейсах из эндемичных стран, у которых малярия может начаться в ходе полета; команды и пассажиры судов, посещающих тропические порты.

В условиях отечественного здравоохранения экспресс-тесты следует иметь в инфекционных больницах на случай необходимости срочной диагностики, если лаборатория в данный момент не функционирует.

Общим принципом является необходимость подтверждения положительного теста методом микроскопии. Поэтому при проведении теста всегда следует сделать несколько толстых капель и тонких мазков для последующей окраски и исследования (спустя несколько часов или на следующий день).

В настоящее время на мировом рынке присутствует большое количество фирм, производивших RDT и выпустивших около 200 коммерческих продуктов. Объем производства тестов и количество брендов непрерывно растут, а сами тесты усовершенствуются, например, появляется возможность количественной оценки уровня паразитемии.

В настоящее время выпускаются в основном так называемые кассетные тесты. Индивидуальный тест представляет собой пластмассовую кассету размерами чуть больше стандартного предметного стекла. В кассете имеется три выреза: для помещения капельки крови, заливки реагента и считывания результата. Кассета запечатана в индивидуальный пакетик вместе с другими материалами, необходимыми для одного исследования, включающими скарификатор, пластиковый капилляр, флакончик с реагентом.

Определенное количество капиллярной крови испытуемого вносится в соответствующее отверстие, а в другое (большее) выливается содержимое флакончика. Смесь растекается по нитроцеллюлозной полоске, которая видна в отверстии для считывания результата. В зависимости от типа теста и результата проявляются от одной до нескольких полосок. Обязательным условием успешного теста является проявление контрольной полоски. Если таковая не проявилась, тест считается неудавшимся и исследование повторяют. Интерпретация факта проявления других полосок зависит от конкретного бренда.

Детальные правила проведения каждого теста: схема постановки теста, хранение и стабильность набора, сбор и хранение исследуемых образцов, процедура анализа, соблюдение правил постановки тестов, ограничения теста, внутренний контроль качества, аналитические характеристики указаны в инструкциях по выполнению, особой для каждого конкретного бренда.

7. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

В настоящее время для диагностики малярии используется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), суть которой заключается в идентификации минимальных количеств специфических белков возбудителей.

Ценность ПЦР заключается в том, что ее чувствительность значительно выше, чем у микроскопии.

Высокая чувствительность дает большие преимущества для выявления скрытых источников инфекции с субклинической паразитемией, например, при расследовании случаев прививной малярии у реципиентов крови или среди наркоманов, а также для поиска источников в очагах с остаточной передачей при элиминации малярии.

Кроме того, ПЦР позволяет легко выявлять смешанную инфекцию. В этом случае, как правило, один вид резко доминирует (обычно *P. falciparum*) и маскирует таким образом единичных паразитов второго вида при микроскопии крови.

Может использоваться ПЦР для контроля качества работы лабораторий, для вторичного исследования отрицательных препаратов.

Вместе с тем высокая чувствительность метода не играет большой роли в индивидуальной диагностике малярии у лихорадящих субъектов, так как количества паразитов, не выявляемые микроскопией, но выявляемые ПЦР,

обычно недостаточны, чтобы вызвать температурную реакцию.

В настоящее время существует ряд модификаций классической ПЦР, но любая модификация включает три основных этапа:

1. Выделение ДНК.
2. Собственно ПЦР (амплификация), которая представляет собой циклический процесс в специальном программируемом термостате, называемом амплификатор, или термоциклер. На этом этапе с помощью праймеров, которые ограничивают фрагмент ДНК, подлежащий копированию, выделяются и достраиваются нити ДНК. В результате многократных повторений этого процесса концентрация искомого ДНК в пробе нарастает в миллионы раз.
3. Детекция продукта ПЦР (амплифицированной ДНК). В случае положительной реакции концентрация искомого ДНК возрастает настолько, что ее становится легко выявить с помощью электрофореза.

Одной из наиболее эффективных модификаций классической ПЦР является "вложенная" ПЦР (nested PCR), при которой применяются две пары праймеров, и, соответственно, амплификация идет в два этапа. Такой прием значительно повышает чувствительность и специфичность амплификации.

В случае диагностики малярии на первом этапе происходит амплификация ДНК с использованием праймеров только по отношению к роду *Plasmodium*, на втором этапе выделяется видоспецифичный материал, что определяется подбором соответствующих специфичных праймеров.

В качестве источника ДНК можно использовать толстую каплю крови, нативную или окрашенную. Собранные пробы крови направляют в лабораторию, где имеется оборудование для проведения ПЦР. Каждую пробу крови упаковывают отдельно, чтобы избежать контаминации.

Следует иметь в виду, что в ходе подготовки материала толстые капли разрушаются, т.е. не могут быть использованы для повторной микроскопии. Для постановки ПЦР выпускаются готовые стандартные наборы."

Перечень нормативных правовых актов Российской Федерации, применяемых в области эпидемиологического надзора и диагностики малярии (по состоянию на 01.08.2016г.)

№ п/п	Название документа	Краткое описание	Статус
1	Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 22.08.2014 №50 (ред. от 29.12.2015) " Об утверждении СанПиН 3.2.3215-14. Профилактика паразитарных болезней на территории РФ " - Зарегистрировано в Минюсте России 12.11.2014 №34659	Требования к комплексу мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения паразитарных заболеваний Р.У. Мероприятия по профилактике малярии, п. 5.8 - Контингент, подлежащий обследованию на малярию	Действует Разработано взамен СанПиН 3.2.1333-03
2	МУК 4.2.3222-14.4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 22.09.2014)	Регулируют порядок применения метода отбора проб и методов лабораторных исследований биологического материала людей с целью обнаружения возбудителей малярии и бабезиозов, определения их видовой принадлежности П.3. Методы лабораторной диагностики малярии и бабезиозов П.4. Техника паразитологической (микроскопической) диагностики П.6. ИХА в лаб. диагностике (экспресс-тесты) П.7. ПЦР Микрофотографии препаратов	Действуют Разработаны взамен МУК 3.2.987-00 "Паразитологическая диагностика малярии"
3	МУ 3.4.3008-12. 3.4. Санитарная охрана территории. Порядок эпидемиологической и лабораторной диагностики особо опасных, "новых" и "возвращающихся" инфекционных болезней. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 28.03.2012)	Схема 12. Порядок проведения эпидемиологической диагностики, включающей клинические, эпидемиологические и диагностические критерии малярии; П.9. Порядок лабораторной диагностики новой (неизвестной) инфекционной болезни	Действуют Введены впервые
4	МУ 3.4.2552-09. 3.4. Санитарная охрана территории. Организация и проведение первичных противоэпидемических мероприятий в случаях выявления большого (трупа), подозрительного на заболевания инф. болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 17.09.2009)	Приведены материалы по инфекционным болезням, требующим проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации: клинико-эпидемиологическая характеристика отдельных нозологических форм (в том числе малярии - прил. 1, стр. 35-36), действия медицинского персонала при выявлении большого (трупа), схемы информации и оповещения, лечения и экстренной профилактики, комплектование упаковок, правила забора и транспортирования материала (малярия - прил.6 - стр. 72), применение средств индивидуальной защиты, режимы обеззараживания различных объектов, зараженных патогенными микроорганизмами	Действуют Введены в действие 01.11.2009
5	МУ 3.2.974-00 Малярийные комары и борьба с ними на территории Российской Федерации. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 16.05.2000)	Документ содержит требования к организации и проведению профилактических и истребительных мероприятий против малярийных комаров в целях предупреждения возникновения заболеваний малярией и ликвидации активных очагов	Действуют Введены впервые

**Перечень нормативно-правовых документов в сфере здравоохранения Российской Федерации,
содержащих разделы, касающиеся лабораторной диагностики ВИЧ - инфекции
(по состоянию на 01.08.2016г.)**

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов	Статус
1	Федеральный закон от 30.03.1995 № 38-ФЗ (ред. от 23.05.2016) "О предупреждении распространения в Российской Федерации заболевания вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)"	Гл. II. Медицинская помощь ВИЧ-инфицированным (ст.7.-9 -добровольное и обязательное медицинское освидетельствование; ст.15 - профилактика, диагностика и лечение ВИЧ-инфекции)	Действует
2	Постановление Правительства РФ от 04.09.1995 № 877 "Об утверждении Перечня работников отдельных профессий, производств, предприятий, учреждений и организаций, которые проходят обязательное медицинское освидетельствование для выявления ВИЧ-инфекции при проведении обязательных предварительных при поступлении на работу и периодических медицинских осмотров"	Перечень работников отдельных профессий, производств, предприятий, учреждений и организаций, которые проходят обязательное медицинское освидетельствование для выявления ВИЧ-инфекции при проведении обязательных предварительных при поступлении на работу и периодических медицинских осмотров	Действует
3	Постановление Правительства РФ от 13.10.1995 № 1017 (ред. от 04.09.2012) "Об утверждении Правил проведения обязательного медицинского освидетельствования на выявление вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)"	Настоящие Правила устанавливают единый порядок обязательного медицинского освидетельствования граждан Российской Федерации, иностранных граждан и лиц без гражданства в целях предупреждения распространения в Российской Федерации заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)	Действует
4	Постановление Правительства РФ от 28.02.1996 № 221 (ред. от 30.12.2005) "Об утверждении Правил обязательного медицинского освидетельствования лиц, находящихся в местах лишения свободы, на выявление вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)"	Правила устанавливают порядок обязательного медицинского освидетельствования с целью выявления вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции) у лиц, находящихся в местах лишения свободы	Действует
5	Постановление Правительства РФ от 31.12.2010 №1230 "Об утверждении правил и методов исследований и правил отбора образцов донорской крови, необходимых для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии"	П. 9-13 - исследование донорской крови и ее компонентов на наличие возбудителей гемотрансмиссивных инфекций, иммунологические методы для выявления маркеров ВИЧ, ВГВ, ВГС, сифилиса; молекулярно-биологические методы; правила отбора образцов донорской крови для исследования на данные маркеры	Действует
6	Приказ Минздравмедпрома РФ от 16.08.1994 №170 (ред. от 18.04.1995) "О мерах по совершенствованию профилактики и лечения ВИЧ-инфекции в Российской Федерации" (вместе с "Методическими указаниями по организации лечебно-диагностической помощи и диспансерного наблюдения за больными ВИЧ-инфекцией и СПИДом", "Положением о кабинете психосоциального консультирования и добровольного обследования на ВИЧ")	Ч.1. Клиника, диагностика и лечение ВИЧ-инфекции. П.1.2. Лабораторные критерии для постановки диагноза ВИЧ-инфекции	Действует* *) в редакции Приказа Минздрава РФ от 18.04.1995 №100 приложение 2 - положение о территориальном ЦСПИД утратило силу
7	Приказ Минздравмедпрома РФ от 30.10.1995 №295 "О введении в действие правил проведения обязательного медицинского освидетельствования на ВИЧ и перечня работников отдельных профессий, производств, предприятий, учреждений и организаций, которые проходят обязательное медицинское освидетельствование на ВИЧ"	Приложение 3 к приказу - Перечень показаний для обследования на ВИЧ/СПИД в целях улучшения качества диагностики ВИЧ-инфекции	Действует
8	Приказ Минздрава РФ от 07.08.2000 №312 "О совершенствовании организационной структуры и деятельности учреждений по профилактике и борьбе со СПИД"	Положения о Федеральном и окружных ЦСПИД. В числе функций - совершенствование методов диагностики (в т.ч. лабораторной); проведение экспертных и арбитражных лабораторных исследований с целью верификации ВИЧ-инфекции; организация и проведение внешнего контроля качества лабораторий, занимающихся серодиагностикой ВИЧ-инфекции	Действует

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов	Статус
9	Приказ Минздрава РФ от 19.12.2003 №606 "Об утверждении инструкции по профилактике передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку и образца информированного согласия на проведение химиопрофилактики ВИЧ" (зарегистрировано в Минюсте РФ 22.01.2004 №5468)	Инструкция по профилактике передачи ВИЧ от матери ребенку в период беременности, родов и в период новорожденности; в том числе по проведению тестирования Р. I. п. 1.6 - лабораторное подтверждение диагноза - обнаружение АТ к ВИЧ в ИФА и подтверждение их специфичности в ИБ; в ряде случаев применяются более сложные и дорогие методики по обнаружению самого ВИЧ, его АГ и генетического материала. Р. II. Показания и противопоказания к применению метода. Р. III. П. 3.4 - необходимость двукратного тестирования беременных - при первичном обращении и в 3-ем триместре (34-36 недель беременности). П. 3.6. В экстренных случаях (при невозможности стандартного тестирования) для обнаружения АТ к ВИЧ используют экспресс-тест-системы (для решения вопроса о назначения химиопрофилактики, но не для постановки диагноза; для диагностики обязательно подтверждение в ИФА и ИБ)	Действует
10	"Методические рекомендации о проведении обследования на ВИЧ-инфекцию" (утверждены Минздравсоцразвития РФ от 06.08.2007 №5950 РХ)	Настоящее руководство дополняет приказ Минздрава-медпрома от 30.10.1995 №295. Определены контингенты лиц, подлежащие обязательному обследованию на ВИЧ, кратность обследования, а также методы (в том числе ИФА) и особенности лабораторной диагностики этой инфекции. Оценка результатов. Правила и порядок обязательного медицинского освидетельствования на ВИЧ	Действует
11	"Методические рекомендации Минздравсоцразвития РФ по лабораторному предупреждению передачи ВИЧ при переливании крови и ее компонентов" (утверждены МЗ и СР РФ от 24.09.2007 №7067-РХ)	Лабораторное обследование доноров на наличие АТ и АГ ВИЧ	Действует
12	"Проведение лабораторного обследования на ВИЧ-инфекцию (в том числе исследование иммунитета и вирусной нагрузки при ВИЧ-инфекции)" Методическое письмо (утверждено Минздравсоцразвития РФ от 04.08.2006 №4174-РХ)	Диагностический алгоритм проведения лабораторного обследования на ВИЧ-инфекцию (ВИЧ-1/ВИЧ-2) на первом этапе (скрининговая лаборатория) и втором этапе (референс-лаборатория, включены описания методов (ИФА, быстрые тесты, ИБ, ПЦР); определение вирусной нагрузки, интерпретация результатов; безопасность работы в лаборатории	Действует
13	Методическое письмо Минздравсоцразвития РФ от 28.08.2006 №4614-ВС "Об организации медико-социальной помощи ВИЧ-инфицированным беременным женщинам и рожденным ими детям"	Изложены основные принципы организации медико-социальной помощи ВИЧ-инфицированным беременным женщинам и их детям П.2.1 выводов по профилактике перинатальной передачи ВИЧ - применение стандартов мед. помощи (приказы МЗСР РФ от 2005г №374 и 375); П.2.2. выводов - проведение информированного добровольного тестирования всех беременных на ВИЧ дважды за период беременности (при взятии на диспансерное наблюдение и на сроке 34-36 недель (или при поступлении на роды - если не было проведено на сроке 34-36 недель)	Действует
14	"Правила постановки диагноза ВИЧ-инфекции. Методическое письмо " (утверждено Минздравсоцразвития РФ от 10.11.2006 №5922-РХ)	П.1.1. Установление факта инфицирования ВИЧ, раздел Лабораторное подтверждение диагноза ВИЧ-инфекции - обнаружение АТ к ВИЧ; обнаружение ВИЧ, его АГ и генетического материала; неспецифические лабораторные признаки ВИЧ-инфекции П.1.2. Постановка клинического диагноза ВИЧ-инфекции	Действует
15	"Рекомендации по проведению добровольного обследования населения на наличие антител к ВИЧ" (утверждены Минздравом РФ от 04.07.1997)	Важнейшим подходом к предотвращению распространения ВИЧ-инфекции в Российской Федерации является обучение населения безопасному в плане заражения ВИЧ поведению. Обследование на наличие ВИЧ-антител с соответствующей консультацией играют главную роль в предупреждении передачи инфекции и минимизации нанесенного вреда	Действует
16	Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 18.05.2010г №58 (ред. от 10.06.2016) "Об утверждении Сан-Пин 2.1.3.2630.10 "Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность" (зарегистрировано в Минюсте РФ 09.08.2010 №18094)	Раздел III. - Профилактика внутрибольничных инфекций (ВБИ) в стационарах (отделениях) хирургического профиля; Раздел IV. - Профилактика ВБИ в акушерских стационарах (отделениях) - включают пункты, касающиеся обследования медперсонала на ВИЧ	Действует

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов	Статус
17	Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 11.01.2011 №1 "Об утверждении СП 3.1.5.2826-10 "Профилактика ВИЧ-инфекции" (зарегистрировано в Минюсте РФ 24.03.2011 №20263)	Гл.IV. - Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции (п.п. 4.1-4.9) - в том числе - Диагностический алгоритм тестирования на наличие АТ к ВИЧ (п.4.4); диагностика ВИЧ-инфекции у детей до 18 мес., рожденных ВИЧ-инфицированными матерями (п.4.5.); использование только сертифицированных стандартизованных тест-систем, разрешенных к использованию на территории РФ, для входного контроля качества тест-систем применение стандартных панелей сывороток (отраслевых стандартных образцов), разрешенных к использованию в установленном порядке (п. 4.6.); применение простых/быстрых тестов для определения АТ к ВИЧ (п.4.8.); гл.V - Порядок освидетельствования на ВИЧ	Действует
18	Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 13.02.2012 №16 "О неотложных мерах по противодействию распространения ВИЧ-инфекции в РФ" (зарегистрировано в Минюсте 22.03.2012 № 23584)	п.2.2. Об обеспечении медицинской помощи ВИЧ-инфицированным - необходимости проведения таких лабораторных обследований как вирусная нагрузка и иммунный статус - для контроля за состоянием здоровья, назначения АРВТ и мониторинга ее эффективности; п.3.5. О систематических плановых выборочных (дозорных) серологических и поведенческих обследованиях среди групп высокого риска заражения ВИЧ-инфекцией и трудно идентифицируемых контингентов населения (потребителей инъекционных наркотиков, мужчин, вступающих в сексуальные отношения с мужчинами, коммерческими секс работниками)	Действует
19	"МР 3.1.0087-14. Профилактика инфекционных болезней. Профилактика заражения ВИЧ. Методические рекомендации " (утв. Роспотребнадзором 18.03.2014)	Предназначены для организаций и специалистов, работающих в области профилактики ВИЧ-инфекции. Содержат основную информацию об этиологии, клиническом течении, диагностике, лечении и профилактических и противозидемических мероприятиях. П. 3.2. Диагностика ВИЧ-инфекции (в том числе лабораторная диагностика). Перечень контингентов, подлежащих обязательному обследованию на ВИЧ	Действует
20	"МУ 3.1.3342-16. 3.1. Профилактика инфекционных болезней. Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией. Методические указания " (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 26.02.2016)	Определены основные принципы организации и порядок осуществления эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией п.3.5. Выявление (лабораторная диагностика) ВИЧ-инфекции; п.3.7. Учет случаев ВИЧ-инфекции; п.4. Организация системы эпиднадзора за ВИЧ-инфекцией в РФ (в том числе по результатам тестирования на ВИЧ); п.4.1. Анализ и оценка эпидемиологических данных; п.4.3. Интерпретация данных по обследованию населения на АТ к ВИЧ; п.4.4. Значение обследования различных групп населения; п.4.6. Мониторинг за резистентностью ВИЧ к АРВП (в том числе определение ВН, CD4); п.5. Эпидемиологическое расследование случаев ВИЧ-инфекции; п.5.1. Использование генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа при проведении эпид. расследования случаев ВИЧ-инфекции. Прил.1. Контингенты, подлежащие обязательному мед. освидетельствованию и рекомендуемые для добровольного обследования на ВИЧ-инфекцию	Действует

СПИСОК АББРЕВИАТУР

АГ	антиген	ННИОТ	нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы
АРТ	антиретровирусная терапия	НС	нейросифилис
АКТ	артемизинин-комбинированная терапия	ОП	оптическая плотность
АТ	антитело	ОР	относительный риск
ВААРТ	высокоактивная антиретровирусная терапия	ОШ	отношение шансов
ВГВ (HBV)	вирус гепатита В	ПМА	противомалярийные антитела
ВГС (HCV)	вирус гепатита С	ППР	поверхностный плазмонный резонанс
ВИЧ (HIV)	вирус иммунодефицита человека	ТКК	метод "толстой" капли крови
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения	РИФ	реакция иммунофлюоресценции
ВП	ВИЧ-позитивный	РИФабс.	реакция иммунофлюоресценции с абсорбцией
ВН	ВИЧ-негативный	ПВТ	противовирусная терапия
ГЭБ	гематоэнцефалический барьер	ПИФ	метод прямой иммунофлюоресценции
ДИ	доверительный интервал	ПЛС	процент ложных сроков
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота	ПЦР	полимеразная цепная реакция
ДЭТ	диагностический экспресс-тест	РНК	рибонуклеиновая кислота
ИППП	инфекции, передаваемые половым путем	РПГА	реакция пассивной гемагглютинации
ИФА	иммуноферментный анализ	РЧ	репродуктивное число
ИХЛА	иммунохемилюминисцентный анализ	СКК	метод "сухой капли крови"
ИХ	иммунохроматографический метод	СПИД	синдром приобретенного иммунодефицита
ИХЭТ	иммунохроматографический экспресс-тест	СПРПИ	средняя продолжительность раннего периода инфицирования
КП	коэффициент позитивности	ТМП	метод "темнопольной" микроскопии
ЛПР	ложноположительные результаты	ХЛА	хемилюминисцентный анализ
МБ	малярия беременных	ХСА	хондроитинсульфат А
МКА	моноклональные антитела	ЦНС	центральная нервная система
МСМ	мужчины, вступающие в сексуальные отношения с мужчинами	ЦСЖ	цереброспинальная жидкость
НИОТ	нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы	СДС	(Centers for Disease Control)–Центр по контролю и профилактике заболеваний, США
		FDA	(Food and Drug Administration)–Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов, США

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Нижний Новгород

Центральный офис ООО «НПО «Диагностические системы»:

603024, г. Нижний Новгород
ул. Горького, д. 195
тел./факс канцелярии (831) 434-86-83
тел. 8-800-555-03-00 (звонок по России бесплатный)
E-mail: info@npods.ru, selling@npods.ru
официальный сайт: <http://www.npods.ru>

Служба поддержки клиентов:
тел.(831) 467-82-18 (доб.7647,7655)
E-mail: help-ds@npods.ru

Представительства

Москва	Диагностические системы—Столица 123317, г. Москва, Пресненская наб, д. 12, Деловой комплекс "Федерация", Башня "Восток", 29-й этаж тел. (495) 653-81-31, 653-81-32 ds-stolica@bk.ru
Санкт-Петербург	Диагностические системы—СПб 194156, г. Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 33/1, офис 411 тел/факс (812) 331-72-82 info@spb-npods.ru
Красноярск	ООО "Диагностические системы—Сибирь" 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 16 д тел./ факс (3912) 78-19-83, 54-16-55, 54-17-58 sbit@ds-s.ru
Екатеринбург	ООО "Диагностические системы—Урал" 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 12, стр. 22, вход 10 отдел продаж: (343) 272-33-08 ds-ural@npods.ru
Украина	ООО "Диагностические системы—Украина" 04107, Украина, г. Киев, ул. Баггоутовская, 8/1, тел. +38044-361-55-76 ua@npods.ru
Казахстан	ТОО "FORTIS PAI" (ФОРТИС ПАЙ) 050019, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Чаплина, 71, оф. 2, тел.факс +7-727-234-46-44, +7-727-231-05-12 sales@fortispai.ru www.fortispai.kz
Узбекистан	ООО "INSTEP" 100090, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. М. Таробий, 29 А, тел. +99871-254-00-26, тел./факс +99871-254-07-05, instep@inbox.ru www.instep.uz

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2515051

**ИММУНОФЕРМЕНТНАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНЫХ СРОКОВ ЗАРАЖЕНИЯ
ВИРУСОМ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА 1 ТИПА
(ВИЧ-1), В ТОМ ЧИСЛЕ ВИЧ-1 ГРУППЫ O, В
СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ ЧЕЛОВЕКА "ДС-ИФА-
ВИЧ-АТ-СРОК"**

Патентообладатель(ли): *Общество с ограниченной
ответственностью "Научно-производственное объединение
"Диагностические системы" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2013117608

Приоритет изобретения 17 апреля 2013 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 12 марта 2014 г.

Срок действия патента истекает 17 апреля 2033 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



Автор(ы): Шарипова Ирина Николаевна (RU), Загрядская Юлия Евгеньевна (RU),
Пузырев Владимир Федорович (RU), Ольховский Игорь Алексеевич (RU),
Нешумаев Дмитрий Александрович (RU), Рузаева Людмила Александровна (RU),
Обрядина Анна Петровна (RU), Бурков Анатолий Николаевич (RU), Уланова Татьяна Ивановна (RU)