

Влияние современных подходов к лабораторному обследованию доноров крови и ее компонентов на инфицированность вирусом гепатита В у больных с заболеваниями системы крови

Е.Н. ИГНАТОВА¹, Т.А. ТУПОЛЕВА¹, Е.Н. ОВЧИННИКОВА¹, Т.Ю. РОМАНОВА¹, Н.Г. ЯРОСЛАВЦЕВА¹, Ф.П. ФИЛАТОВ², В.В. ТРОИЦКАЯ¹, Л.А. КУЗЬМИНА¹, Е.Н. ПАРОВИЧНИКОВА¹, Т.В. ГАПОНОВА¹, В.Г. САВЧЕНКО¹

¹ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия; ²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Оценка частоты выявления маркеров вируса гепатита В (HBV) в образцах крови больных с заболеваниями системы крови с использованием современных подходов к обследованию доноров крови и ее компонентов на маркеры вирусных инфекций.

Материалы и методы. В исследование включили образцы крови пациентов с заболеваниями системы крови ($n=364$) и доноров ($n=5011$). Ретроспективно проанализированы результаты лабораторного скрининга образцов крови доноров ($n=13\ 081$). Для проведения иммунохимического анализа и полимеразной цепной реакции использовали коммерческие наборы реагентов.

Результаты. Маркеры активной инфекции HBV у больных с заболеваниями системы крови зарегистрированы в 12,6% случаев, анти-HBc — 31,3%, анти-HBs — 37,6%. Ретроспективный анализ результатов скрининга образцов крови доноров показал наличие маркеров активной инфекции HBV в 0,28% случаев. В проспективном обследовании доноров крови у 4,83% выявлены маркеры инфекции HBV, в том числе активной формы 0,54%, анти-HBc 4,79%. В 0,42% случаев маркерами активной инфекции HBV у доноров были только анти-HBc-IgM. Образцы крови доноров с анти-HBs в титре >200 мМЕ/мл в 10,5% содержали анти-HBc-IgM.

Заключение. В последние 5—7 лет частота обнаружения маркеров инфекции HBV в образцах крови пациентов с заболеваниями системы крови сохраняется на высоком уровне. Скрининг на декретированные маркеры не позволяет выявлять скрыто инфицированных лиц среди доноров. Даже при высокой концентрации анти-HBs в крови донора существует риск потенциальной трансфузионной передачи HBV реципиенту.

Ключевые слова: вирус гепатита В, антитела к ядерному антигену вируса гепатита В, пациенты с заболеваниями системы крови, трансфузионный путь передачи.

Impact of current approaches to laboratory screening of donated blood and its components on hepatitis B virus infection in patients with blood system diseases

E.N. IGNATOVA, T.A. TUPOLEVA, E.N. OVCHINNIKOVA, T.Yu. ROMANOVA, N.G. YAROSLAVTSEVA, F.P. FILATOV, V.V. TROITSKAYA, L.A. KUZMINA, E.N. PAROVICHNIKOVA, T.V. GAPONOVA, V.G. SAVCHENKO

¹National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; ²I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Aim. To evaluate the detection rate of markers for hepatitis B virus (HBV) in the blood samples taken from patients with blood system diseases, by applying the current approaches to examining donated blood and its components for markers of viral infections.

Materials and methods. The investigation included blood samples from patients with blood system diseases ($n=364$) and donors ($n=5,011$). The results of laboratory screening of donated blood samples ($n=13,081$) were retrospectively analyzed. Commercial kits of reagents were used for immunochemical assay and polymerase chain reaction.

Results. Patients with blood system diseases were recorded to have markers of active HBV infection in 12.6% of cases, anti-HBc in 31.3%, and anti-HBs in 37.6%. A retrospective analysis of the results of screening donated blood samples showed the presence of markers for active HBV infection in 0.28% of cases. A prospective examination of blood donors revealed markers of HBV infection in 4.83% of cases, including those of active forms in 0.54% and anti-HBc in 4.79%. The markers of active HBV infection in donors were only anti-HBc IgM in 0.42% of cases. The blood samples from donors with an anti-HBs titer of >200 mIU/ml contained anti-HBc IgM in 10.5%.

Conclusion. In the last 5-7 years, the detection rate of markers of HBV infection in the blood samples of patients with blood system diseases have remained at a high level. Screening for decreed markers fails to identify people with inapparent infections among the donors. Even high anti-HBs concentrations in the donated blood may be a risk for HBV transmission by transfusion to a recipient.

Keywords: hepatitis B virus, hepatitis B virus core antigen antibodies, patients with blood system diseases, transfusion mode of transmission.

анти-HBc — суммарные антитела к ядерному антигену вируса гепатита В
анти-HBc-IgM — иммуноглобулины класса М к ядерному антигену вируса гепатита В

анти-HBe — антитела к е-антигену вируса гепатита В
анти-HBs — антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В
ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения

ГНЦ — Гематологический научный центр
ЛПЗ — лимфопролиферативные заболевания
МДС — миелодиспластический синдром
ОЛ — острый лейкоз
ПЦР — полимеразная цепная реакция

ХМЛ — хронический миелолейкоз
HBsAg — поверхностный антиген вируса гепатита В
HBeAg — е-антиген вируса гепатита В
HBV — вирус гепатита В
NAT — Nucleic amplification techniques

Больные с заболеваниями системы крови относятся к группе высокого риска заражения вирусными инфекциями с парентеральным механизмом передачи, в частности вирусным гепатитом В (HBV). В работе Т.Ц. Гармаевой [1] показано, что частота обнаружения положительных тестов на маркеры HBV у больных при госпитализации в гематологическое отделение составляла 16,6%, это в 2 раза и более выше, чем в популяции. По данным исследования, выполненного с 2004 по 2006 г., ведущим фактором инфицирования HBV больных гемобластомами и депрессиями кроветворения являлись гемотрансфузии [2].

Инфекционная безопасность гемокомпонентной терапии зависит, в частности, от качества лабораторного тестирования донорской крови [3]. Наиболее диагностически значимым маркером HBV является поверхностный антиген — HBsAg. Существенно повышает возможность выявления потенциально инфицированных доз крови применение генамплификационных методов диагностики — Nucleic amplification techniques (NAT) [4]. С 1997 г. дополнительно к тестированию на HBsAg в план обязательного обследования донорской крови многих стран начали вводить полимеразную цепную реакцию (ПЦР) как один из самых простых и удобных форматов NAT-анализа: в 1997 г. в Германии, в 1999 г. Японии, в 1998—2000 г. США, Канаде, Австралии, в 2004 г. Испании, в 2007 г. Швейцарии, Тайланде и др. [5—7]. Определение у доноров ДНК HBV с 1999 г. стало обязательным в странах Евросоюза, а с 2005 г. рекомендовано Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) [8]. Высокая аналитическая чувствительность ПЦР позволяет тестировать как индивидуальный образец, так и несколько образцов крови (от 6 до 24), объединенных в один мини-пул [9]. В государствах, где NAT-скрининг донорской крови является сложившейся практикой, вирусная безопасность гемотрансфу-

зий достигла высокого уровня [10, 11]. После введения тестирования крови доноров на вирусные нуклеиновые кислоты остаточный риск инфицирования HBV снизился в США с 1 на 830 тыс. до 1 на 2 млн, в Швейцарии с 1 на 95 тыс. до 1 на 296 тыс., в Австралии с 1 на 483 тыс. до 1 на 1 млн донаций [12,13]. В то же время в развивающихся странах Африканского континента этот показатель остается высоким — 1 на 19 608 донаций [13]. По данным отечественных авторов, остаточный риск инфицирования HBV в Российской Федерации составляет 1 на 19 637 донаций [14].

Лабораторная диагностика инфекции HBV у доноров крови в Российской Федерации осуществляется в соответствии с приказом №364 от 14.09.2001г. «Об утверждении Порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов». Декретированным маркером при скрининговых исследованиях сывороток крови доноров является HBsAg и с 2008 г. введено обязательное исследование NAT-методом на наличие ДНК HBV в мини-пулах образцов HBsAg-негативной плазмы для фракционирования [15]. Однако исключение HBsAg-позитивных доз крови не дает полной гарантии вирусной безопасности в отношении HBV. Анализ данных литературы указывает на недостаточность тестирования только на этот маркер для обеспечения безопасности компонентов донорской крови, поскольку в этом случае остаются не выявленными пять категорий лиц: в ранней фазе инфекции HBV (фаза «серонегативного окна»); в ранней фазе выздоровления (фаза «соге-окна»); хронические носители HBV с низким титром HBsAg (более того, чувствительность метода может снижаться в присутствии анти-HBs); с латентной инфекцией HBV (наличие ДНК HBV в ткани печени в отсутствие HBsAg, в крови обнаруживаются только «изолированные» анти-HBs); носители мутантного штамма HBV (который может возникать как естественным путем, так и после противовирусной терапии) [16—18].

Несмотря на высокую чувствительность и 100% специфичность ПЦР, анализ современных данных литературы позволяет заключить, что NAT-тестирование на ДНК HBV и ИФА-тестирование на HBsAg не обеспечивают в полной мере вирусную безопасность гемокомпонентов [18,19]. Риск инфицирования HBV реципиента сохраняется. Для повышения безопасности необходимо выявление и других маркеров HBV. Наличие в крови любого из них, кроме изолированных анти-HBs, указывает на инфицированность этим вирусом. Выявление анти-HBs может свидетельствовать о ранее проведенной вакцинации. В последние годы активно обсуждается понятие скрытого вирусного гепатита В, при котором, по данным литературы, анти-HBs может являться единственным маркером

Сведения об авторах:

Туполева Татьяна Алексеевна — врач-вирусолог, зав. научно-клиническим отд. вирусологической диагностики

Овчинникова Елена Николаевна — врач клинической лабораторной диагностики

Романова Тамара Юрьевна — н.с.

Ярославцева Наталья Гургановна — с.н.с.

Филатов Феликс Петрович — в.н.с.

Троицкая Вера Витальевна — зав. научно-клиническим отд-нием химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения

Кузьмина Лариса Анатольевна — зав. научно-клиническим отделением высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга

Паровичникова Елена Николаевна — зав. научно-клиническим отд. высокодозной химиотерапии, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга

Гапонова Татьяна Владимировна — зам. директора по трансфузиологии

Савченко Валерий Григорьевич — ген. дир., акад. РАН

Контактная информация:

Игнатова Елена Николаевна — н.с. 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4; тел.: +7(495)656-0654; e-mail: ihele@yandex.ru

HBV в крови в 35% случаев [20]. Для выявления инфицированных лиц и реконвалесцентов инфекции HBV может служить тестирование на антитела к ядерному антигену HBV (core-антигену) — анти-НВс, так как эти антитела сохраняются в крови практически на протяжении всей жизни [16, 21]. Исследование донорской крови на этот маркер HBV применяют в США и в некоторых европейских странах (Германия, Франция) для дополнительного отбора доноров [22—24]. Однако нет рекомендаций ВОЗ для проведения тестирования на анти-НВс в повседневной практике учреждений, заготавливающих донорскую кровь. Необходимость применения этого теста обусловлена распространенностью HBV в конкретном регионе и частотой новых случаев HBV-инфекции [25].

Некоторые исследователи считают, что положительный результат на анти-НВс в отсутствие других маркеров HBV может быть следствием неспецифической реакции [26], поэтому для решения вопроса об использовании анти-НВс-положительных доз крови в клинической практике проводят дополнительно тестирование на уровень анти-НВс. В настоящее время в качестве минимального протективного уровня этих антител у пациентов определена концентрация равная 10 мМЕ/мл [25]. Для доноров крови ситуация отличается. В Великобритании анти-НВс-положительные дозы крови с титром анти-НВс более 100 мМЕ/мл считают безопасными для клинического и производственного применения, а в Японии и Голландии, странах с умеренным и низким уровнем распространенности инфекции HBV, для тех же целей используют анти-НВс-положительные дозы с титром анти-НВс равным или превышающим 200 мМЕ/мл [27—29].

Цель работы — оценить частоту выявления маркеров HBV в образцах крови больных с заболеваниями системы крови с использованием современных подходов к обследованию доноров крови и ее компонентов на маркеры вирусных инфекций.

Материалы и методы

Пациенты. В исследование включили образцы крови 364 пациентов, проходивших лечение в клиниках ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (далее ГНЦ) в период с июля 2013 г. по октябрь 2014 г. Продолжительность 15 мес. Характеристика пациентов приведена в табл. 1.

Образцы крови тестировали на молекулярные (ДНК) и серологические (НВsAg, НВеAg, анти-НВс, анти-НВс-IgM, анти-НВе) маркеры HBV. Исследование проводили при госпитализации и во время проведения плановой терапии по клиническим показаниям.

Доноры крови и ее компонентов. Проанализированы результаты лабораторного скрининга образцов крови доноров ($n=13081$) отделения заготовки крови и ее компонентов ГНЦ в период с января 2012 г. по декабрь 2013 г. (2 года). Результаты тестирования на НВsAg получены с помощью наборов реагентов НВsAg-ИФА-БЕСТ (комплект №1) производства ООО «Вектор-Бест». На ДНК HBV дополнительно исследованы НВsAg-отрицательные образцы донорской крови (4736 из 13 047, или 36,3%) с использованием мультиплексной тест-системы Cobas Taqscreen MPX Test в мини-пулах из 6 образцов.

В проспективное исследование, проведенное с марта 2014 г. по август 2014 г. (5 мес), включили 5011 образцов крови доноров. Все образцы донорской крови тестировали на НВsAg и суммарные анти-НВс. Негативные по НВsAg образцы анализировали на наличие ДНК HBV. Положительные по анти-НВс образцы исследовали на наличие анти-НВс-IgM и уровень анти-НВс.

Таблица 1. Характеристика пациентов, включенных в исследование

Характеристика	Значение
Мужчины/женщины	168/196
Возраст, годы, медиана (разброс)	41,5 (16—76)
Нозологические формы абс. число больных (%):	
ОЛ	157 (43,1)
ЛПЗ	100 (27,5)
МДС, АА	61 (16,8)
ХМЛ	5 (1,4)
прочие заболевания	41 (11,2)
Первичные пациенты	164 (44,7)

Примечание. ОЛ — острые лейкозы, ЛПЗ — лимфопролиферативные заболевания, МДС — миелодиспластический синдром, АА — апластическая анемия, прочие заболевания — болезнь Гоше, неуточненное накопление липидов, ИБС и др., ХМЛ — хронический миелолейкоз.

Методы. В качестве клинического материала исследовали периферическую кровь. Для молекулярного анализа кровь отбирали в стерильную пластиковую пробирку с напылением калиево-соли этилендиаминтетрауксусной кислоты, для серологического исследования — в стерильную пластиковую пробирку с активатором свертывания крови.

Молекулярный скрининг крови больных проводили в формате индивидуальных образцов. Для выделения ДНК HBV из 100 мкл плазмы больных использовали коммерческие наборы ДНК-сорб-В или Рибо-преп («ИнтерЛабСервис», Россия). Для амплификации ДНК HBV использовали наборы АмплиСенс HBV-FL» и АмплиСенс HBV-монитор-FL («ИнтерЛабСервис», Россия).

Молекулярный скрининг крови доноров проводили с помощью автоматических анализаторов Cobas AmpliPrep и Cobas Taqman («Roche», Швейцария) с использованием мультиплексной тест-системы Cobas Taqscreen MPX Test в мини-пулах из 6 образцов.

Серологические маркеры HBV (НВsAg, НВеAg, анти-НВс, анти-НВс-IgM, анти-НВе) определяли методом иммунохемилюминесцентного анализа на аппарате Architect с использованием соответствующих тест-систем Architect («Abbott», США) и методом иммуноферментного анализа, используя коммерческие тест-системы отечественных и зарубежных производителей: «ВекторБест» (Россия), «ЭКОлаб» (Россия), «BioRad» (США).

Для статистических расчетов критериев Пирсона (χ_2) или точного критерия Фишера использовали пакет программ EPI5 версии 5.0. Статистически значимыми считали различия при $p=0,05$.

Результаты

Получен следующий состав маркеров HBV у 364 обследованных пациентов: анти-НВс — 195 (53,6%), анти-НВе — 114 (31,3%), анти-НВе — 63 (17,3%), ДНК HBV — 30 (8,2%), НВsAg — 26 (7,1%), анти-НВс-IgM — 23 (6,3%), НВеAg — 4 (1,1%). В некоторых образцах одновременно выявлялись 2 маркера HBV и более (табл. 2).

В 46 (12,6%) пробах зарегистрированы маркеры активной инфекции HBV — ДНК HBV, НВsAg, анти-НВс-IgM, НВеAg, но ни один из них не встречался изолированно: в 6 образцах определена ДНК HBV и анти-НВс, в 2 из них с анти-НВс; в двух — НВsAg и анти-НВс, причем в 1 — с анти-НВс. НВеAg наблюдали в сочетании с НВsAg, ДНК HBV, анти-НВс. В одном образце из четырех НВеAg-

Таблица 2. Состав маркеров HBV в образцах крови пациентов

Число образцов	Маркеры инфекции HBV					
	ДНК HBV	HBsAg	анти-HBc	анти-HBc-IgM	HBeAg	анти-HBs
42			+			+
27			+			
11	+	+	+			
9			+	+		+
7	+	+	+	+		
5			+	+		
4	+		+			+
2	+	+	+	+	+	
2	+	+	+			+
2	+		+			
1	+	+			+	
1	+	+	+		+	
1		+	+			
1		+	+			+
137						+
Итого: 252	30	26	114	23	4	195

положительных антитела отсутствовали, что является лабораторным признаком первичного острого процесса. Анти-HBc-IgM в 5 (1,4%) из 23 случаев были единственным свидетельством активной инфекции, в 9 (2,5%) — в присутствии анти-HBs. У 114 (31,3%) из 364 пациентов обнаружены анти-HBc, причем в 27 (7,4%) образцах крови выявлены только анти-HBc, в 42 (11,5%) — в комбинации с анти-HBs. Изолированные анти-HBe у пациентов не отмечены. У 137 (37,6%) пациентов выявлены только анти-HBs.

Для анализа сформированы 3 группы: 1-я — пациенты с наличием маркеров HBV в крови, 2-я — пациенты, у которых выявлены изолированные анти-HBs, 3-я — пациенты, в образцах крови которых отсутствовали лабораторные маркеры HBV (табл. 3). Доли этих групп оказались сопоставимы (31,6, 37,6 и 30,8%; $p>0,05$) и между группами пациентов распределение по нозологическим формам не имело статистически значимых различий ($p>0,05$).

Проанализирована трансфузионная терапия в каждой группе пациентов (табл. 4). Из представленных данных следует, что пациенты всех 3 групп получали терапию компонентами донорской крови, причем их доли статистически значимо различались ($p=0,001$; $\chi^2=13,33$): около 60% в группе пациентов, в образцах крови которых выявлены любые маркеры HBV, в то время как в 3-й группе (в отсутствие маркеров HBV в крови) — менее 40%. Среднее количество трансфузий в 1-й и 2-й группах пациентов было одинаковым (19,0 и 19,8), а в 3-й — меньше (17,7). Доля лиц с высокой трансфузионной нагрузкой в 1-й группе составила 23,1%, а в 3-й — 9,3% ($p=0,021$; $\chi^2=7,72$).

При анализе результатов лабораторного скрининга образцов крови доноров в период с января 2012 по декабрь 2013 г. выявлено 34 (0,26%) из 13 081 с наличием HBsAg. При дополнительном тестировании 36,3% образцов крови HBsAg-негативных доноров на наличие ДНК HBV методом ПЦР в наборах из 6 проб обнаружены 2 позитивных образца с низкой вирусной нагрузкой (<150 МЕ/мл).

В проспективном исследовании, включающем тестирование донорской крови на наличие HBsAg, ДНК HBV и анти-HBc, в 4,83% (242 из 5011) образцов выявлены маркеры HBV (табл. 5). Декретированный маркер (HBsAg) выявлен в 2 из 5 образцов изолировано, в 3 — в сочетании с другими маркерами: анти-HBc; ДНК HBV и анти-HBc; анти-HBc и анти-HBc-IgM. Вирусная ДНК обнаружена в 2 (0,04%) случаях, причем в одном из них в сочетании с HBsAg и анти-HBc, а в другом — только с анти-HBc. Анти-HBc определялся у 240 (4,79%) из 5011, в 22 случаях выявлены анти-HBc-IgM.

В анти-HBc-положительных образцах крови доноров исследовали титр анти-HBs. Полученные результаты представлены в табл. 6.

Анти-HBs в титре >200 мМЕ/мл выявлены в 124 (51,6%) из 240. Анти-HBc-IgM детектировали в 13 (10,5%) из 124 случаев при титре анти-HBs >200 мМЕ/мл, в 5 (11,1%) из 45 — с титром анти-HBs <10 мМЕ/мл.

Обсуждение

Маркеры активной инфекции HBV у больных с заболеваниями системы крови зарегистрированы в 12,6% случаев. В предыдущей работе показано, что этот показатель в образцах крови аналогичной выборки пациентов составил 19,9%, и это значительно превышает результаты, полученные в данном исследовании ($p=0,02$) [30]. У 31,3% пациентов были обнаружены анти-HBc, указывающие на

Таблица 3. Распределение пациентов по нозологическим формам в группах, сформированных в зависимости от наличия маркеров HBV

Параметр	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Нозологические формы:			
ОЛ	46 (40%)	72 (52,6%)	39 (34,8%)
ЛПЗ	32 (27,8%)	25 (18,2%)	43 (38,4%)
МДС, АА	23 (20%)	23 (16,8%)	15 (13,4%)
ХМЛ	2 (1,8%)	3 (2,2%)	0
Прочие заболевания	12 (10,4%)	14 (10,2%)	15 (13,4%)
Всего	115 (31,6%)	137 (37,6%)	112 (30,8%)

Таблица 4. Трансфузионное обеспечение пациентов в группах, сформированных в зависимости от наличия маркеров HBV

Параметр	1-я группа (n=115)	2-я группа (n=137)	3-я группа (n=112)
Пациенты, получающие трансфузионную терапию, %	59,6	56	37,2
Число трансфузий, медиана (разброс)	19,0 (1—86)	19,8 (1—132)	17,7 (1—92)
Трансфузионная нагрузка <20 трансфузий, %	36,5	40	27,9
Трансфузионная нагрузка >20 трансфузий, %	23,1	16	9,3

Таблица 5. Состав маркеров HBV в образцах крови доноров

Число образцов	Маркеры HBV-инфекции				
	ДНК HBV	HBsAg	анти-HBc	анти-HBc IgM	анти-HBs
179			+		+
36			+		
16			+	+	+
5			+	+	
2		+			
1	+		+		
1	+	+	+		
1		+	+	+	
1		+	+		
Итого: 242	2	5	240	22	195

Таблица 6. Концентрация анти-HBs в анти-HBc-положительных образцах крови 240 доноров

Концентрация анти-HBs, мМЕ/мл	Число образцов с указанной концентрацией анти-HBs	Число анти-HBc-IgM положительных образцов
>200	124 (51,6%)	13 из 124 (10,5%)
101—200	25 (10,4%)	1 из 25 (4%)
10—100	46 (19,2%)	2 из 46 (4,3%)
<10	45 (18,8%)	5 из 45 (11,1%)

инфицированность HBV. Эти антитела могут выявляться при хронической, латентной инфекции HBV или в фазе выздоровления и не могут быть следствием вакцинации. Анти-HBe обнаруживали всегда в комплексе с другими маркерами. Вероятно, для диагностики инфицированности HBV не представляют особого значения, а скорее важны для прогноза течения вирусного гепатита. Сероконверсия HBeAg является благоприятным признаком спонтанного излечения или успешной противовирусной терапии [31].

У 37,6% пациентов выявлены изолированные анти-HBs. Эти антитела могут быть свидетельством как вакцинации, так и скрытого гепатита В, поэтому вопрос о наличии инфекции HBV у таких пациентов в отсутствие данных о вакцинации остается открытым. С учетом того, что с 2001 г. проводили вакцинацию подростков 13 лет согласно новому календарю профилактических прививок, лица моложе 27 лет на момент проведения исследования могли быть вакцинированы, и эта группа составила 44 (12,1%) человека из 364, медиана возраста 21,7 года. Пациентов ($n=93$, или 25,5%) в возрасте от 27 до 73 лет (медиана 42,7 года) можно условно считать переболевшими вирусным гепатитом В или, согласно данным литературы, скрыто инфицированными HBV [20]. При сравнении частоты выявления изолированных анти-HBs (37,6%) в образцах крови больных с заболеваниями системы крови с результатами, полученными ранее (19,4%), отмечены статистически значимые различия ($p<0,05$) [30]. Это можно объяснить долей в данной группе, вероятно, вакцинированных пациентов (12,1%), поскольку при исключении

этих лиц из анализа и сравнении распространенности изолированных анти-HBs в старшей возрастной группе (25,5%) результаты оказались сопоставимыми ($p>0,05$).

Трансфузионный путь инфицирования HBV считается основным [2, 32], поэтому проанализирована трансфузионная терапия в каждой группе пациентов. Пациенты всех 3 групп получали терапию компонентами донорской крови. Согласно данным литературы, более 20 переливаний компонентов крови одному реципиенту расценивали как высокую трансфузионную нагрузку [33]. Доля лиц с высокой трансфузионной нагрузкой в 1-й группе более чем в 2 раза больше доли таких пациентов в 3-й группе ($p=0,021$; $\chi^2=7,72$). Данный факт подтверждает сложившееся мнение о ведущей роли трансфузионного фактора в передаче HBV.

Высокая распространенность маркеров HBV в образцах крови пациентов с заболеваниями системы крови сохраняется в течение многих лет, что показано в проведенном исследовании (31,6%) и в предыдущих работах (37,2%) [30]. По данным литературы, маркеры HBV при использовании современных тест-систем могут быть определены в период от 15 дней до 6 мес в крови инфицированных лиц без патологии иммунной системы [34]. У пациентов с заболеваниями системы крови ослаблен иммунологический контроль, что может приводить к более позднему формированию иммунного ответа или его полному отсутствию. В исследовании выявлены 27 пациентов (период наблюдения от 1 мес до 4 лет 9 мес), у которых антитела к HBsAg выявлялись транзиторно. Поэтому с целью прослеживания возможной трансфузионной передачи HBV реципиентам с гематологическим анамнезом целесообразно увеличить временной интервал анализа данных обследования образцов крови доноров до 1,5 года. В связи с этим анализировали результаты лабораторного скрининга образцов крови доноров в период с января 2012 г. по декабрь 2013 г. У 36 (0,28%) из 13 081 доноров зафиксированы маркеры активной инфекции HBV, и эти компоненты крови не переливались пациентам ГНЦ. Доноры крови в этот период не обследованы на анти-HBc, наличие которых в образце крови может быть единственным маркером хронической инфекции HBV с низкой репликативной активностью вируса, так называемого скрытого гепатита В [22].

Иницировано проспективное исследование, включающее тестирование донорской крови не только на HBsAg и ДНК HBV, но и на наличие анти-HBc. В 4,83% образцов выявлены маркеры HBV. У доноров крови и ее компонентов анти-HBc явился наиболее часто выявляемым маркером HBV, как и у пациентов ГНЦ (31,3%), и определялся в 4,79% случаев. В 21 случае маркерами активной инфекции HBV служили только анти-HBc-IgM, что могло свидетельствовать о наличии процесса в скрытой форме, поскольку, согласно данным литературы, антитела к ядерному антигену HBV могут служить единственным признаком субклинической формы гепатита В [31].

В некоторых странах допускается применение анти-HBc-положительных компонентов крови при наличии определенного уровня анти-HBs. Учитывая данные литературы, мы оценили распределение образцов крови анти-HBc-положительных доноров по 4 уровням концентрации анти-HBs: отрицательные (<10 мМЕ/мл), 10—100 мМЕ/мл, 101—200 мМЕ/мл, >200 мМЕ/мл [25, 27—29].

Почти в 50% образцов крови доноров выявлены анти-НВs в титре >200 мМЕ/мл. При этом в 10,5% случаев в этих образцах выявлены и анти-НВс-IgM. Практически идентичная доля (11,1%) анти-НВс-IgM выявлена в образцах с титром анти-НВs <10 мМЕ/мл. Следовательно, наличие защитного титра анти-НВs не может гарантировать потенциальную вирусную безопасность компонентов крови.

Заключение

В результате проведенного серологического и молекулярного скрининга маркеры HBV выявлены у 115 (31,6%) из 364 пациентов ГНЦ. В предыдущих работах показано, что частота обнаружения маркеров инфекции HBV в образцах крови аналогичной выборки пациентов составляла 37,2%. Следовательно, этот показатель за последние 5–7 лет не претерпел статистически значимых изменений и сохраняется на высоком уровне. У 1/3 пациентов отмечены изолированные анти-НВs, которые могут быть как свидетельством вакцинации, так и скрытого гепатита В (37,6%). При мониторинге серологических маркеров HBV у пациентов с заболеваниями системы крови в 27 (19,7%) из 137 случаев наблюдали транзитную детек-

цию анти-НВs. Нельзя исключить вероятность наличия инфекции HBV и в 3-й группе, поскольку при скрытой форме гепатита маркеры HBV в крови могут отсутствовать.

Одной из причин высокого уровня встречаемости маркеров HBV у пациентов гематологического стационара является то, что скрининг на декретированные маркеры, независимо от качества тест-систем и оборудования для лабораторной диагностики, не позволяет выявлять скрыто инфицированных лиц среди доноров. Результаты исследования подтверждают это. Установлено, что частота обнаружения маркеров HBV у доноров крови составила 4,83%, причем в 0,54% случаев выявлены маркеры активной инфекции. Основным маркером HBV у доноров крови служил анти-НВс (4,79%). Маркеры активной инфекции HBV с одинаковой частотой встречались как в анти-НВs-негативных образцах (11,1%), так в образцах крови доноров с высоким титром антител (10,5%), что может указывать на потенциальный риск трансфузионной передачи HBV реципиенту даже при высокой концентрации защитных антител в крови донора.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гармаева Т.Ц., Куликов С.М., Михайлова Е.А., Игла Р.Е., Шматова Т.Ф., Гемджян Э.Г., и др. Динамика инфицирования вирусами гепатитов В и С больных с заболеваниями системы крови. *Гематология и трансфузиология*. 2009;54(5):16-23. [Garmaeva TT, Kulikov SM, Mikhailova EA, Iгла RE, Shmatova TF, Gemdzhyan EG, i dr. Dinamika infitsirovaniya virusami gepatitov V i S bol'nykh s zabolevaniyami sistemy krovi. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2009;54(5):16-23. (In Russ.)].
2. Гармаева Т.Ц. Вирусные гепатиты В и С у больных заболеваниями системы крови: Дисс. д-ра мед. наук. Москва; 2012. Ссылка активна на 30.05.2016. <http://www.dissercat.com> [Garmaeva TT. Virusnye gepatity V i S u bol'nykh zabolevaniyami sistemy krovi. Diss. na soiskanie uchenoi stepeni doktora med nauk Moskva 2012 Ssylka aktivna na 30.05.2016. Dostupno po: <http://www.dissercat.com> (In Russ.)].
3. Hatu G, Brumboiu MI, Gorgan IN, Bocşan IS. Romanian blood donors screening: is it really necessary and/or mandatory? *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2013;117(3):741-746. Accessed May 30, 2016. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24502043>
4. Гармаева Т.Ц., Куликов С.М., Судариков А.Б., Филатов Ф.П., Михайлова Е.А., Городецкий В.М., Савченко В.Г. О необходимости использования методов генодиагностики для тестирования доноров крови, компонентов крови и реципиентов многочисленных гемотрансфузий. *Гематология и трансфузиология*. 2011;4:36-39. [Garmaeva TT, Kulikov SM, Sudarikov AV, Filatov FP, Mikhailova EA, Gorodetskii VM, Savchenko VG. O neobkhodimosti ispol'zovaniya metodov genodiagnostiki dlya testirovaniya donorov krovi, komponentov krovi i retsipientov mnogochislennykh gemotransfuzii. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2011;4:36-39. (In Russ.)].
5. Margaritis AR, Brown SM, Seed CR, Kiely P, et al. Comparison of two automated nucleic acid testing systems for simultaneous detection of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus RNA and hepatitis B virus DNA. *Transfusion*. 2007;47(10):1783-1793. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01343.x>
6. Reesink HW, Engelfriet CP, Henn G, et al. Occult hepatitis B infection in blood donors. *Vox Sang*. 2008;94(2):153-166. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2008.01017.x>
7. Slotz M, Tinguely C, Graziani M, et al. Efficacy of individual nucleic acid amplification testing in reducing the risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus infection in Switzerland, a low endemic region. *Transfusion*. 2010;50(12):2695-2706. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2010.02732.x>
8. Белякова В.В. Совершенствование лабораторного тестирования для обеспечения вирусной безопасности аллогенных гемокомпонентов: Дисс. канд. биол. наук. Москва; 2014. Ссылка активна на 30.05.2016. <http://www.dissercat.com> [Belyakova VV. Sovershenstvovanie laboratornogo testirovaniya dlya obespecheniya virusnoi bezopasnosti allogennykh gemokomponentov. Dissertatsii na soiskanie uchenoi stepeni kand. biol. nauk. Moskva, 2014g Ssylka aktivna na 30.05.2016. <http://www.dissercat.com> (In Russ.)].
9. Богословская Е.В., Цыганкова Г.М., Шипулин Г.А. Скрининг донорской крови с помощью молекулярно-генетических методов ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора. Москва, Лабораторная медицина. 2008;9. Ссылка активна на 30.05.2016. <http://md2007.org/ru/programm.pdf> [Bogoslovskaya EV, Tsygankova GM, Shipulin GA. Skринing donorskoi krovi s pomoshch'yu mole-kulyarno-geneticheskikh metodov FGUN «Tsentral'nyi NII epidemiologii» Rospotrebnadzora. Moskva, Laboratornaya meditsina. 2008;9. Ssylka aktivna na 30.05.2016. <http://md2007.org/ru/programm.pdf> (In Russ.)].
10. Филатов Ф.П. Вирусная безопасность переливания крови. *Природа*. 2005;3. Ссылка активна на 30.05.2016. http://vivovoco.astronet.ru/VV/JOURNAL/NATURE/03_05/VIRUS.HTM [Filatov FP. Virusnaya bezopasnost' perelivaniya krovi. *Природа*. 2005;3. Ssylka aktivna na 30.05.2016. http://vivovoco.astronet.ru/VV/JOURNAL/NATURE/03_05/VIRUS.HTM (In Russ.)].

11. Жибурт Е.Б., Шестаков Е.А., Коденев А.Т. и др. Новое в трансфузиологии (на XIX региональном конгрессе международного общества переливания крови). Трансфузиология. 2009;3-4:64-91. [Zhiburt EB, Shestakov EA, Kodenev AT i dr. Novoe v transfuziologii (na KhIX regional'nom kongresse mezhdunarodnogo obshchestva perelivaniya krovi). Transfu-ziologya. 2009;3-4:64-91. (In Russ.)].
12. Stramer SL, Wend U, Candotti D, Foster G.A, Hollinger FB, Dodd RY, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. N Engl J Med. 2011;364:236-247. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1007644>
13. Kupek E. Residual risk of hepatitis-B-infected blood donations: estimation methods and perspectives. Review article. ISRN Infectious Diseases. 2013;15. <https://doi.org/10.5402/2013/839896>
14. Губанова М.Н., Мадзаев С.Р., Аветисян К.С., Бахметьев А.В., Буркибаев Ж.К., Зарубин М.В., Караваев А.В., Ключева Е.А., Коденев А.В., Кузнецов К.В., Максимов А.Р., Скорикова С.В., Султанбаев У.С., Филина Н.Г., Хальзов К.В., Яковлева Л.М., Жибурт Е.Б. Расчетный остаточный риск инфицирования при трансфузии. Инфекции в трансфузиологии и трансплантологии. Молекулярная диагностика. 2014;1. Ссылка активна на 30.05.2016. <http://cyberleninka.ru/article/n/raschetnyy-ostatochnyy-risk-infitsirovaniya-pri-perelivanii-krovi> [Gubanova MN, Mad-zaev SR, Avetisyan KS, Bakhmet'ev AV, Burkitbaev ZhK, Zarubin MV, Karavaev AV, Klyueva EA, Kodenev AV, Kuz-netsov KV, Maksimov AR, Skorikova SV, Sultanbaev US, Filina NG, Khal'zov KV, Yakovleva LM, Zhiburt EB. Raschetnyi ostatochnyi risk infitsirovaniya pri transfuzii. Infektsii v transfuziologii i transplantologii. Molekulyarnaya diagnostika. 2014;1. Ssylka aktivna na 30.05.2016. <http://cyberleninka.ru/article/n/raschetnyy-ostatochnyy-risk-infitsirovaniya-pri-perelivanii-krovi> (In Russ.)].
15. Приказ Минздрава РФ от 14.09.2001 №364 (ред. от 06.06.2008) «Об утверждении Порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов» (Зарегистрировано в Минюсте РФ 31.10.2001 №3009) Ссылка активна на 30.05.2016. http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_78073/ © КонсультантПлюс, 1992-2015 [Prikaz Minzdrava RF ot 14.09.2001 №364 (red. ot 06.06.2008) «Ob utverzhdenii Poryadka meditsinskogo obsledovaniya donora krovi i ee komponentov» (Zaregistrovano v Minyuste RF 31.10.2001 №3009) Ssylka aktivna na 30.05.2016. http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_78073/ © Konsul'tantPlyus, 1992-2015 (In Russ.)].
16. Голосова Т.В., Бондаренко И.А. Трансфузионные инфекции: эпидемиология, диагностика в службе крови. Вестник службы крови России. 2007;1:16-21. [Golosova TV, Bondarenko IA. Transfuzionnye infektsii: epidemiologiya, diagnostika v sluzhbe krovi. Vestnik sluzhby krovi Rossii. 2007;1:16-21. (In Russ.)].
17. Захаров В.В., Колышкин В.М., Оприщенко С.А., Русанов В.М. Вирусная безопасность донорской плазмы и лечебных препаратов крови, Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011;4(59). [Zakharov VV, Kolyshkin VM, Oprishchenko SA, Rusanov VM. Virusnaya bezopasnost' donorskoj plazmy i lechebnykh preparatov krovi, Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika. 2011;4(59). (In Russ.)].
18. Тарасенко О.А., Гукасян И.А., Соболевская Л.В., Черненко Т.В. Опыт использования метода ПЦР для выявления РНК(ДНК) возбудителей вирусных гепатитов В и С у серонегативных доноров. Трансфузиология. 2010;2. Ссылка активна на 30.05.2016. <http://transfusion-web.ru> [Tarasenko OA, Gukasyan IA, Sobolevskaya LV, Chernenko TV. Opyt ispol'zovaniya metoda PTCR dlya vuyavleniya RNK(DNK) vzbuditelei virusnykh gepatitov V i S u seronegativnykh donorov. Transfuziologiya. 2010;2. Ssylka aktivna na 30.05.2016. <http://transfusion-web.ru> (In Russ.)].
19. Ярославцева Н.Г., Грумбкова Л.О., Туполева Т.А., Игнатова Е.Н., Сомова А.В., Гуляева А.А. и др. Вирусная безопасность гемотрансфузий: обеспечивают ли ее принятые лабораторные методы выбраковки донорской крови по гепатитам В и С. Гематология и трансфузиология. 2006;2:22-26. [Yaroslavtseva NG, Grumbkova LO, Tupoleva TA, Ignatova EN, Somova AV, Gulyaeva AA i dr. Virusnaya bezopasnost' gemotransfuzii: obespechivayut li ee prinyatye laboratornye metody vybrakovki donorskoj krovi po gepatitam V i S. Gematologiya i transfuziologiya. 2006;2:22-26. (In Russ.)].
20. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendia MA, Chen DS, Colombo M, Craxi A, Donato F, Ferrari C, Gaeta GB, Gerlich WH, Levrero M, Locarnini S, Michalak T, Mondelli MU, Pawlotsky JM, Pollicino T, Prati D, Puoti M, Samuel D, Shouval D, Smedile A, Squadrito G, Trepo C, Villa E, Will H, Zanetti AR, Zoulim F. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. Journal of Hepatology. 2008;49:652-657. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.07.014>
21. Аммосов А.Д. Гепатит В. Информационно-методическое пособие. Новосибирск: «Вектор-Бест»; 2006. [Ammosov AD. Gepatit V. Informatsionno-metodicheskoe posobie. Novosibirsk: «Vektor-Best»; 2006. (In Russ.)].
22. Рос К, Вебер М, Петерсен Д, Дростен К, Бур С, Сирайс В, и др. HBV NAT и АНТИ-НВс-тестирование повышают безопасность крови. Институт трансфузионной медицины и иммуногематологии Германского Красного Креста, реферат, Российско-немецкий научно-методический сборник, Москва — Новосибирск — Франкфурт-на-Майне, 2004:38-55. Ссылка активна на 30.05.2016. <http://www.zavlab.ru/files/pdf/garantiya.pdf> [Ros K, Veber M, Petersen D, Drostent K, Bur S, Sirais V, i dr. HBV NAT i ANTI-NBc- HBV NAT i ANTI-NBc-testirovanie povyshajut bezopasnost' krovi. Institut transfuzionnoi meditsiny i immunogematologii Germanского Krasnogo Kresta, referat, Rossiisko-nemetskii nauchno-metodicheskii sbornik, Moskva — Novosibirsk — Frankfurt-na-Maine, 2004:38-55. Ssylka aktivna na 30.05.2016. <http://www.zavlab.ru/files/pdf/garantiya.pdf> (In Russ.)].
23. Seifried E, Roth WK. Возможность, эффективность и себестоимость NAT-тестирования в Германии. Вестник Службы крови России. 2004;2:47-49. Ссылка активна на 30.05.2016. <http://www.fskl.ru/wp-content/uploads/2013/07/2004.pdf>
24. Roth WK. Quarantine Plasma: Quo vadis? Transfus Med Hemother. 2010;37:118-122. <https://doi.org/10.1159/000314710>
25. WHO: Screening donated blood for transfusion-transmissible infections: recommendations. Geneva; 2009. Accessed May 30, 2016. Available from <http://apps.who.int/iris>
26. Katz L, Strong DM, Tegtmeier G, Stramer S. Performance of an algorithm for the reentry of volunteer blood donors deferred due to false-positive test results for antibody to hepatitis B core antigen. Transfusion. 2008;48(11):2315-2322. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01844.x>
27. Department of Health Advisory Group on- Hepatitis: Protecting health care workers and patients from hepatitis B. Recommendations: of the Advisory Group on Hepatitis. HMSO, 1993, London. Accessed May 30, 2016. Available at: http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/+www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Lettersandcirculars/Healthserviceguidelines/DH_4084234
28. Sato S, Ohhashi W, Ihara H, et al. Comparison of the sensitivity of NAT using pooled donor samples for HBV and that of a serologic HBsAg assay. Transfusion. 2001;41(9):1107-1113. <https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.2001.41091107.x>
29. Satake M, Taira R, Yugi H, et al. Infectivity of blood components with low hepatitis B virus DNA levels identified in a lookback program. Transfusion. 2007;47(7):1197-1205. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01276.x>

30. Сомова А.В, Туполева Т.А., Ярославцева Н.Г., Грумбкова Л.О., Романова Т.Ю., Голосова Т.В., Филатов Ф.П. Сравнительное изучение частоты выявления маркеров вируса гепатита В (HBV) в ИФА и ПЦР у гематологических больных. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Прил.31. Материалы 13 Российской конференции «Гепатиты сегодня» Москва, 17-19 марта 2008:40-30. [Somova AV, Tupoleva TA, Yaroslavtseva NG, Grumbkova LO, Romanova TYu, Golosova TV, Filatov FP. Sravnitel'noe izucheniye chastoty vyyavleniya markerov virusa gepatita V (VGV) v IFA i PTsR u gematologicheskikh bol'nykh. Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii. Prilozhenie №31. Materialy 13 Rossiiskoi konferentsii «Gepatity segodnya» Moskva, 17-19 marta 2008:40-30. (In Russ.)].
31. Gerlich WH. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology*. 2013;10:239. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-239>
32. Гармаева Т.Ц., Куликов С.М., Карякин А.В., Терентьева Л.А., Туполева Т.А., Грумбкова Л.О., Ярославцева Н.Г., Сомова А.В., Филатов Ф.П., Февралева И.С., Макарик Т.В., Глинщикова О.А., Судариков А.Б., Михайлова Е.А., Савченко В.Г. Мониторирование факторов риска и индикаторов инфицированности вирусами гепатитов В и С у гематологических больных. *Гематология и трансфузиология*. 2006;1:23-27. [Garmaeva TTs, Kulikov SM, Karyakin AV, Terent'eva LA, Tupoleva TA, Grumbkova LO, Yaroslavtseva NG, Somova AV, Filatov FP, Fevrалеva IS, Makarik TV, Glinshchikova OA, Sudarikov AB, Mikhailova EA, Savchenko VG. Monitorirovaniye faktorov riska i indikatorov infitsirovannosti virusami gepatitov V i Su gematologicheskikh bol'nykh. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2006;1:23-27. (In Russ.)].
33. Huber-Wagner S, Qvick M, Mussack T, Euler E, Kay MV, Mutschler W, Kanz K-G and Working Group on Polytrauma of the German Trauma Society (DGU). Massive blood transfusion and outcome in 1062 polytrauma patients: a prospective study based on the Trauma Registry of the German Trauma Society. *VoxSanguinis*. 2007;92(1):69-78. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2006.00858.x>
34. Vermeulen M, Dickens C, Lelie N, Walker E, Coleman C, Keyter M, Reddy R, Crookes R, Kramvis A. Hepatitis B virus transmission by blood transfusion during 4 years of individual-donation nucleic acid testing in South Africa: estimated and observed window period risk. *Transfusion*. 2012;52(4):880-892. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03355.x>

Поступила 14.06.16