

из которых в 50 было два ребенка: больной + сиблинги). К тому же широкое внедрение в практику методов ДНК-типирования HLA-системы в последние десятилетия значительно улучшило качество HLA-типирования.

С увеличением числа сиблингов повышается шанс нахождения HLA-идентичного с больным родственного донора. Вероятность нахождения HLA-идентичного родственного донора для больного с одним сиблингом составила 27%, для больного с двумя сиблингами – 37%, для больного с тремя сиблингами – 47%. Однако HLA-идентичный с больным донор может отсутствовать при любом числе сиблингов. Для больных, у которых отсутствует HLA-идентичный родственный донор, необходим поиск HLA-совместимого неродственного донора. Следует иметь в виду, что число многодетных семей постоянно сокращается, понижается средний коэффициент рождаемости, поэтому число больных, для которых имеется возможность подобрать HLA-идентичного родственного донора, постоянно снижается.

Таким образом, в семьях больных с заболеваниями системы крови HLA-гаплотипы наследуются в соответствии с менделевским расщеплением независимо от числа детей в семье.

С увеличением числа сиблингов шансы нахождения HLA-идентичного родственного донора повышаются. Вероятность нахождения HLA-идентичного родственного сиблинга у больных с одним сиблингом близка к 25% (27%), около 37% у больных с двумя сиблингами и возрастает до 47% для больных с тремя сиблингами. Однако HLA-идентичный родственный донор может отсутствовать у больного, нуждающегося в трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, при любом числе сиблингов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Савченко В.Г., ред. *Программное лечение заболеваний системы крови: Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови*. М.: Практика; 2012.
2. Tiercy J.M. Immunogenetics of allogeneic HCST. In: The EBMT Handbook 2008. Available at <http://www.ebmt.org/Contents/Resources/Library/EBMTESHhandbook/> (Accessed 25 February 2016)
3. Зотиков Е.А., Красникова Н.А., Кутына Р.М., Удовиченко А.И., Любимова Л.С. Неменделевский тип наследования комплекса HLA. *Иммунология*. 1989; 6: 20–3.
4. Зарецкая Ю.М., Алешенко С.М., Леднев Ю.А., Мамилеева З.Х., Чугреева Т.П., Хамаганова Е.Г. и др. Неожиданные эффекты в наследовании антигена HLA-A19. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2005; 2: 26–30.
5. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика; 1998.
6. Martin M., Mann D., Carrington M. Recombination rates across the HLA complex: use of microsatellites as a rapid screen for recombinant chromosomes. *Hum. Mol. Genet.* 1995; 4(3): 423–8.

REFERENCES

1. Savchenko V.G., ed. *Program treatment of blood diseases: Diagnostic and treatment protocols for hematological diseases*. Moscow: Praktika; 2012. (in Russian)
2. Tiercy J. M. Immunogenetics of allogeneic HCST. In: The EBMT Handbook 2008. Available at <http://www.ebmt.org/Contents/Resources/Library/EBMTESHhandbook/> (accessed 25 February 2016)
3. Zotikov E.A., Krasnikova N.A., Kutina R.M., Udovichenko A.I., Lubimova L.S. Non Mendelian inheritance of HLA complex. *Immunology. Russian Journal (Immunologiya)*. 1989; 6: 20–3. (in Russian)
4. Zaretskaya Yu.M., Aleshchenko S.M., Lednev Yu.A., Mamilyaeva Z.Kh., Chugreeva T.P., Khamaganova E.G., et al. Unexpected effects in the inheritance of HLA-A19 antigen. *Bulletin of Transplantology and Artificial Organs. Russian Journal (Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov)*. 2005; 2: 26–30. (in Russian)
5. Glants S. *Bio-medical statistics*. Moscow: Praktika; 1998. (In Russian)
6. Martin M., Mann D., Carrington M. Recombination rates across the HLA complex: use of microsatellites as a rapid screen for recombinant chromosomes. *Hum. Mol. Genet.* 1995; 4(3): 423–8.

Поступила 29.06.16
Принята к печати 10.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017
УДК 616.36-002-022-032:611-018.5]:615.38

Туполева Т.А., Романова Т.Ю., Гуляева А.А., Тихомиров Д.С., Игнатова Е.Н., Овчинникова Е.Н., Ярославцева Н.Г., Абакаров Р.Р., Мисько О.Н., Гапонова Т.В., Савченко В.Г.

ОПАСНОСТЬ ПЕРЕДАЧИ ВИРУСОВ ГЕПАТИТОВ В И С С КРОВЬЮ ДОНОРОВ

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия

Остаточный риск трансфузионного инфицирования вирусами гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) в России в несколько десятков раз выше, чем в США. В развитых странах уже много лет широко применяется тестирование с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) как индивидуальных образцов крови доноров, так и в формате минипулов. Это выгодное экономическое решение, поскольку снижает стоимость заготавливаемых компонентов крови. Актуальным остается вопрос – обеспечивает ли такой подход должный уровень вирусной безопасности? Молекулярные маркеры вирусов выявляли в серонегативных образцах плазмы доноров ($n = 33\ 799$) в пулах из 6. Количественно охарактеризованы 72 позитивных образца: 21 по ДНК ВГВ, 51 – РНК ВГС. Исследованы 17 экспериментально приготовленных пулов плазмы, содержащих ДНК ВГВ- или РНК ВГС-позитивный образец. Использованы коммерческие наборы реагентов. За весь период исследования ПЦР-тестирование позволило дополнительно определить наличие инфицирования ВГВ у 3 доноров и ВГС у 3. Низкие значения концентрации ДНК ВГВ зарегистрированы в 14 из 21 образца крови доноров, а в 4 образцах концентрация находилась на пороговом уровне чувствительности тест-системы. Низкие концентрации РНК ВГС определены в 14 из 51 образца крови доноров. Высокие значения концентрации РНК ВГС преобладали (в 37 образцах). Все 5 пулов из 6 и из 12 образцов, содержащих РНК ВГС-позитивный образец плазмы, были положительными. ДНК ВГВ была выявлена в 7 из 10 пулов из 6 образцов, а 2 пула из 12 образцов оказались отрицательны. Учитывая полученные нами данные по высокой частоте низких концентраций ДНК ВГВ (66,67% случаев), тестирование донорской крови методом ПЦР в формате минипулов может приводить к недооценке инфицированных образцов при использовании тест-систем, обладающих недостаточной чувствительностью.

К л ю ч е в ы е с л о в а: вирусы гепатитов В и С; донорская кровь; молекулярные маркеры.

Для цитирования: Туполева Т.А., Романова Т.Ю., Гуляева А.А., Тихомиров Д.С., Игнатова Е.Н., Овчинникова Е.Н., Ярославцева Н.Г., Абакаров Р.Р., Мисько О.Н., Гапонова Т.В., Савченко В.Г. Опасность передачи вирусов гепатитов В и С с кровью доноров. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 32–36. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-32-36>

Tupoleva T.A., Romanova T.Yu., Gulyaeva A.A., Tikhomirov D.S., Ignatova E.N., Ovchinnikova E.N.,
Yaroslavl'tseva N.G., Abakarov R.R., Misko O.N., Gaponova T.V., Savchenko V.G.

RISK OF TRANSMISSION OF HEPATITIS B AND C VIRUSES BY BLOOD TRANSFUSION

National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation

The residual risk of transfusion infection by hepatitis B virus (HBV) and C (HCV) in Russia is several tens of times higher than in the USA. In developed countries for many years there is widely used the testing the blood samples by means of the polymerase chain reaction (PCR) of individual donors and mini-pools. This is an advantageous economic decision, because it reduces the cost of preparing of blood components.

The aim of the study was to analyze the proper level of the viral safety. Molecular markers of viruses were detected in plasma samples of seronegative donors ($n = 33,799$) in pools out of 6. The levels of viral molecular markers were calculated in 72 positive samples: 21 – HBV DNA, 51 – HCV RNA. There were investigated prepared experimentally 17 plasma pools contained HBV DNA, HCV RNA positive specimen. Commercial reagent kits were used.

Key words: hepatitis B and C viruses; blood donations; molecular markers.

For citation: Tupoleva T.A., Romanova T.Yu., Gulyaeva A.A., Tikhomirov D.S., Ignatova E.N., Ovchinnikova E.N., Yaroslavl'tseva N.G., Abakarov R.R., Misko O.N., Gaponova T.V., Savchenko V.G. Risk of transmission of hepatitis B and C viruses by blood transfusion. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i Transfusiology)*. 2017; 62(1): 32-36. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-32-36>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 15 September 2016

Accepted 10 February 2017

До 1970 г. около 6% реципиентов компонентов крови в мире были инфицированы ВГВ, поскольку каждая 1000-я донорская порция содержала вирус [1]. Работы по расчету риска передачи с кровью вирусов гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС), иммунодефицита человека (ВИЧ) и человеческого Т-лимфотропного вируса 1-го типа появились в конце XX века [2–4]. По данным Р. Рогер и соавт. [5], в странах Европы в расчете на 1 000 000 кроводач остаточный риск трансфузионного инфицирования (ОРТИ) для ВГВ, ВГС и ВИЧ составлял 6,92 (1,15–40,8); 15 (0,62–36,9); 0,58 (0–1,27) соответственно. В России первые подобные работы были выполнены в ГНЦ в 2000 г., когда на основании анализа данных инфицированности вирусными агентами донорской крови за 4 года (1996–1999), выявлено,

что на каждые 100 донорских порций приходился 1 случай возможной передачи вирусов гепатитов В или С [6]. В 2004 г. проведен расчет риска контаминации препаратов «Плазма для фракционирования» и «Криопреципитат» при отрицательных результатах тестирования исходного сырья на стандартные маркеры вирусных инфекций. Для плазмы риск контаминации по HBsAg составлял 1:288, анти-HCV 1:186, анти-VII_{1,2} 1:2472, для криопреципитата – 1:151, 1:184, 1:7330 соответственно [7]. Более поздние оценки ОРТИ, рассчитанные на основе анализа данных обследования доноров крови, мониторинга реципиентов множественных трансфузий и контрольного тестирования плазмы крови для производства ее препаратов, составляют для ВГС 940, 1600 и 630 на 1 млн кроводач, трансфузий и единиц плазмы соответственно [8], что, по данным исследований 2014 г., в несколько десятков раз выше, чем в США [9, 10].

Введение молекулярных методов диагностики в рутинную практику больших трансфузионных центров существенно повышает вирусную безопасность крови в отношении передачи ВГВ и ВГС, поскольку РНК ВГС определяется в плазме уже через 1–2 нед после контакта с вирусом и достигает высоких уровней ко времени повышения концентрации аланинаминотрансферазы (АЛТ) и сероконверсии (7–8 нед) [11, 12], а обнаружение ДНК ВГВ позволяет сократить негативное окно до 15 дней и сохраняется при остром гепатите в определяемой концентрации более 3 мес [13]. Тем не менее нулевой риск инфицирования ВГВ, ВГС и ВИЧ при переливании компонентов донорской крови до настоящего времени не достигнут.

За последнее десятилетие было опубликовано много работ, посвященных особенностям патогенеза ВГВ- и ВГС-инфекций [14–17]. Одной из таких особенностей является транзитный характер присутствия в крови различных компонентов вирусов и антител к вирусным белкам. Например, HBsAg, который является основным маркером вирусного гепатита В при рутинной лабораторной диагностике, может периодически не определяться в кровотоке у больных хронической формой инфекции, в том числе в фазе обострения [14]. Кроме того, широко распространены скрытые формы вирусных гепатитов В и С [18, 19]. По мнению F. Hollinger [18], в США, распространенность скрытой ВГВ-инфекции среди доноров крови составляет 2,4%, а в схожих группах доноров, проживающих на эндемичных территориях, достигает 6%. Скрытая ВГС-

Для корреспонденции:

Туполева Татьяна Алексеевна, кандидат медицинских наук, заведующий научно-клиническим отделом вирусологической диагностики, врач-вирусолог ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: ttupoleva@mail.ru.

For correspondence:

Tupoleva Tatiana A., MD, PhD, head of the research and clinical virology diagnostic department, physician virologist National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: ttupoleva@mail.ru.

Information about authors:

Tupoleva T.A., <http://orcid.org/0000-0003-4668-9379>, ID: 6505936805; Romanova T.Yu., <http://orcid.org/0000-0001-7182-2296>; Gulyaeva A.A., <http://orcid.org/0000-0002-0888-6147>; Tikhomirov D.S., <http://orcid.org/0000-0002-2553-6579>, ID: 22735552300; Ignatova E.N., <http://orcid.org/0000-0003-3121-037X>, ID: 7003301655; Ovchinnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0002-9254-8916>; Yaroslavl'tseva N.G., <http://orcid.org/0000-0001-8198-7326>, ID: 6603707331; Abakarov R.R., <http://orcid.org/0000-0002-0650-2779>; Misko O.N., <http://orcid.org/0000-0002-4728-2610>; Gaponova T.V., <http://orcid.org/0000-0002-9684-5045>, ID: 6504211991; Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>, ID: 8532861000.

Таблица 1
Результаты ПЦР-тестирования пулированных образцов
плазмы доноров

№	Величина и содержание пула	Результат ПЦР-тестирования
1	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
2	5 ДНК- и 1 ДНК+	–
3	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
4	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
5	5 ДНК- и 1 ДНК+	–
6	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
7	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
8	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
9	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
10	5 ДНК- и 1 ДНК+	–
11	11 ДНК- и 1 ДНК+	–
12	11 ДНК- и 1 ДНК+	–
13	5 РНК- и 1 РНК+	+
14	5 РНК- и 1 РНК+	+
15	5 РНК- и 1 РНК+	+
16	11 РНК- и 1 РНК+	+
17	11 РНК- и 1 РНК+	+

инфекция встречается у 3,3% лиц без диагностированной патологии печени и повышения уровней аминотрансфераз [20].

В развитых странах уже много лет широко применяют тестирование с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) как индивидуальных образцов крови доноров, так и в формате минипулов и больших производственных пулов плазмы. В России применение молекулярных методов в службе крови носило рекомендательный характер и использовалось ограниченно до 2013 г., когда было введено обязательное обследование на наличие РНК ВГС доноров крови и ее компонентов, органов и тканей при каждой донорской или каждой взятии донорского материала согласно санитарно-эпидемиологическим правилам 3.1.3112-13 «Профилактика вирусного гепатита С». Использование пулирования для данного обследования представляется выгодным экономическим решением, поскольку снижает стоимость диагностики, следовательно, и заготавливаемых компонентов крови. Актуальным остается вопрос – обеспечивает ли такой подход должный уровень вирусной безопасности?

Цель настоящего исследования – изучить возможность пропуска инфицированных ВГВ и ВГС доз крови при лабораторном тестировании маркеров этих вирусов.

Материал и методы

Скрининговое исследование на наличие нуклеиновых кислот ВИЧ, ВГС и ВГВ серонегативных образцов плазмы доноров проводили в пулах из 6 проб с помощью автоматических анализаторов Cobas Ampliprep и Cobas Taqman («Roche», Швейцария) с использованием мультиплексного дискриминационного теста Cobas TaqScreen MPX Test, version 2.0. Заявленная аналитическая чувствительность мультиплексного дискриминационного теста Cobas TaqScreen MPX Test, version 2.0 составляет 13,8 МЕ/мл для ДНК ВГВ и 40,8 МЕ/мл для РНК ВГС при тестировании в формате минипулов из 6 образцов. Количество исследованных образцов крови доноров составило 33 799 в 2009 и 2012–2016 гг.

Количественно охарактеризованы 72 ПЦР-позитивных образца (21 по ДНК ВГВ и 51 по РНК ВГС) с помощью коммерческих наборов реагентов производства ЦНИИЭ: «Рибо-преп», АмплиСенс HCV-Монитор-FRT и -FL, АмплиСенс HBV-Монитор-FRT и -FL. Амплификацию с детекцией флуоресцентного сигнала в режиме реального времени проводили на приборах RG 3000 и Rotor Gene Q («Corbett Research»).

Исследованы 17 экспериментально приготовленных пулов плазмы. Плазму пулировали, смешивая в пробирке по одному

позитивному образцу с концентрацией ДНК ВГВ от менее $1,5 \times 10^2$ до 10^3 МЕ/мл ($n = 12$) или РНК ВГС от 10^4 до 10^7 МЕ/мл ($n = 5$) с отрицательными образцами плазмы в равных объемах. Было приготовлено 13 пулов из 6 образцов и 4 из 12 образцов. Выделение нуклеиновых кислот проводили с помощью наборов реагентов «Рибо-преп» и «Магно-сорб» согласно прилагаемым инструкциям. Для амплификации использовали коммерческие наборы реагентов АмплиСенс HCV-FRT и HCV-FL, АмплиСенс HBV-FRT и HBV-FL.

Результаты

В 2009 г. было протестировано 1200 серонегативных образцов крови доноров на ДНК ВГВ, РНК ВГС и ВИЧ в пулах из 6 проб. Был выявлен 1 образец крови донора, содержащий РНК ВГС. В 2013 г. в тех же условиях были исследованы 4736 образцов крови доноров, что составило 36,3% от общего числа донаций (13 047). В 2 из них была определена ДНК ВГВ в концентрации менее $1,5 \times 10^2$ МЕ/мл. Примечательно, что в обоих образцах присутствовали антитела к ядерному антигену ВГВ (анти-НВс). В то же время в 2014 г., когда на молекулярные маркеры вирусных инфекций было протестировано 77,5% кроводач (9128 из 11 781), а в 2015 г. все 100% (12 677), ни в одном случае не было зарегистрировано положительной реакции. За 6 мес 2016 г. исследовано 6058 серонегативных образцов крови доноров, получено 2 положительных сигнала по РНК ВГС (концентрация РНК ВГС составляла $1,7 \times 10^5$ и 4×10^6 МЕ/мл) и в 1 случае выявлена ДНК ВГВ. При попытке количественно охарактеризовать концентрацию ДНК в последнем образце с помощью набора реагентов с линейным диапазоном измерения 75–100 000 000 МЕ ВГВ/мл был получен отрицательный результат, кроме того, отсутствовали все серологические маркеры вируса гепатита В (НВsAg, анти-НВс, НВeAg, анти-НВe; суммарные анти-НВс, анти-НВс IgM). Через 16 дней в образце крови этого донора концентрация АЛТ была 14 единиц, а концентрация ДНК ВГВ при выделении из 500 мкл плазмы составила $1,4 \times 10^3$ МЕ/мл, серологические маркеры не обнаружены. Со слов донора, через 2,5 мес с момента первичного выявления ДНК ВГВ у него появились тошнота, затем темная моча, жидкий стул, концентрация АЛТ составила 2100 ед., а затем наблюдалось постепенное снижение этого показателя в течение 1 мес до значений 1600 и 400 ед. Через 4 мес концентрация АЛТ была 24 ед., результат исследования образца крови на наличие НВsAg, суммарные анти-НВс, анти-НВс IgM, анти-НВe был положительный, НВeAg, анти-НВс – отрицательные; ДНК ВГВ выявлена в концентрации $1,1 \times 10^3$ МЕ/мл. Данный донор относился к категории «активный повторный донор», совершал ежемесячные донации, и результаты исследования образцов его крови на молекулярные и серологические инфекционные маркеры ранее были отрицательными. Таким образом, на момент последней донации донор находился в начальной стадии заболевания вирусным гепатитом В – «негативного окна».

С целью оценки возможного пропуска инфицированных ВГВ или ВГС образцов крови при тестировании методом ПЦР в пулах из 6 и более образцов мы приготовили 17 пулов. Один из образцов в пуле был положительным по ДНК ВГВ или РНК ВГС. Результаты тестирования представлены в табл. 1.

Все 5 пулов и из 6 и из 12 образцов, содержащие РНК ВГС-позитивный образец плазмы, были положительными. ДНК ВГВ выявлена в 7 из 10 пулов из 6 образцов, а 2 пула из 12 образцов оказались отрицательными.

Для уточнения уровней вирусной нагрузки были количественно охарактеризованы по ДНК ВГВ и РНК ВГС 72 ПЦР-позитивных образца крови доноров. Как следует из представленных в табл. 2 данных, ДНК ВГВ выявлена в концентрации менее $1,5 \times 10^2$ МЕ/мл в 4 (19,05%) образцах, в диапазоне от $1,5 \times 10^2$ до 10^3 МЕ/мл – также в 4 (19,05%) образцах, в 6 (28,57%) случаях – в диапазоне от 10^3 до 10^4 МЕ/мл. Высокие концентрации ДНК ВГВ в диапазоне от 10^4 до 10^5 МЕ/мл отмечены в 4 (19,05%) случаях, в диапазоне от 10^5 до 10^6 МЕ/мл – в 1 (4,76%) случае и более 10^6 МЕ/мл – в образцах плазмы 2 (9,52%) доноров.

Как следует из табл. 3, низкие концентрации РНК ВГС определены в 27,5% образцов крови доноров: менее 300 МЕ/мл

Таблица 2

Количественная характеристика ДНК ВГВ-позитивных образцов крови доноров

Концентрация ДНК ВГВ	Количество	%	Степень концентрации
Менее $1,5 \times 10^2$ МЕ/мл	4	19,05	Низкая 66,67%
От $1,5 \times 10^2$ до 10^3 МЕ/мл	4	19,05	
От 10^3 до 10^4 МЕ/мл	6	28,57	
От 10^4 до 10^5 МЕ/мл	4	19,05	
От 10^5 до 10^6 МЕ/мл	1	4,76	
Более 10^6 МЕ/мл	2	9,52	Высокая 33,33%
Всего...	21	100	

в 1 (1,96%) случае, в диапазоне от 10^3 до 10^4 МЕ/мл в 2 (3,92%), в диапазоне от 10^4 до 10^5 МЕ/мл в 11 (21,57%) случаях. Высокие значения концентрации РНК ВГС определены в 72,55% случаев, при этом в диапазоне от 10^5 до 10^6 МЕ/мл выявлены в 17 (33,33%) образцах и более 10^6 МЕ/мл – в 20 (39,2%).

Обсуждение

Методы, выявляющие белковые маркеры вирусов гепатитов В и С (HBsAg и анти-ВГС), и методы детекции нуклеиновых кислот этих вирусов не являются альтернативными, но дополняют друг друга [21]. По результатам исследований образцов крови доноров ФГБУ ГНЦ в период с 2007 по 2008 г. в половине случаев HBsAg-позитивных образцов крови выявлена и ДНК ВГВ, в то время как при исследовании HBsAg-негативных образцов ДНК ВГВ зарегистрирована в 9 (2%) случаях. Дополнительно обнаруженные 2% инфицированных ВГВ доноров могли находиться как в период «серологического окна», так и иметь скрытую форму гепатита В. Для уточнения стадии инфекционного процесса были проведены дополнительные исследования на широкий спектр маркеров ВГВ. Обнаружено, что 2 из 9 образцов содержали антитела к ВГВ (анти-HBs и в сочетании с анти-HBc), что характерно для скрытой формы гепатита, а остальные были серонегативны, что можно объяснить ранней фазой заболевания. При исследовании крови на маркеры ВГС получены следующие данные: РНК ВГС выявлена в 60% анти-ВГС-позитивных образцов крови доноров и лишь в 0,2% анти-ВГС-негативных. Таким образом, тестирование на РНК ВГС образцов крови доноров дополнительно выявило около 0,2% инфицированных лиц [21].

Суммируя данные, полученные в ходе данного исследования, установлено, что использование ПЦР-тестирования в рутинной практике позволило дополнительно определить наличие инфицирования ВГВ или ВГС почти у 0,02% доноров, образцы крови которых были негативны по рутинным скрининговым маркерам, что существенно меньше по сравнению с предыдущими результатами. Данный факт можно объяснить введением с 2014 г. тестирования крови доноров на анти-HBc. Поскольку ДНК ВГВ может периодически снижаться ниже детектируемого уровня, отмечена необходимость анти-HBc-тестирования для выявления скрытых форм ВГВ-инфекции. Следовательно, образцы крови доноров с серопозитивным вариантом скрытого гепатита В были исключены уже на этапе иммунохимического скрининга. Полученные данные находят подтверждение и в литературе, поскольку среди доноров существенно чаще встречаются лица со скрытым гепатитом В по сравнению с донорами, находящимися в ранней серонегативной фазе инфекции (42 и 8 случаев соответственно) [22]. После введения рутинного скрининга образцов крови доноров на анти-HBc только в 3 случаях получен положительный сигнал при ПЦР-тестировании. Все 3 образца крови принадлежали «активным повторным донорам», которые к моменту последней кроводачи находились в ранней фазе инфекционного заболевания, представляли инфекционную опасность и только благодаря ПЦР-исследованию с использованием

Таблица 3

Количественная характеристика РНК ВГС-позитивных образцов крови доноров

Концентрация РНК ВГС	Количество	%	Степень концентрации
Менее 300 МЕ/мл	1	1,96	Низкая 27,45%
От 10^3 до 10^4 МЕ/мл	2	3,92	
От 10^4 до 10^5 МЕ/мл	11	21,57	
От 10^5 до 10^6 МЕ/мл	17	33,33	
Более 10^6 МЕ/мл	20	39,22	Высокая 72,55%
Всего...	51	100	

высокочувствительной тест-системы компоненты крови, заготовленные от этих доноров, не были допущены до клинического применения.

По результатам экспериментального исследования разведение образцов в 6 и 12 раз не повлияло на выявление РНК ВГС, но привело к недовыявлению инфицированных ВГВ образцов крови в 5 (41,7%) из 12 случаев. Данный эксперимент был выполнен с помощью наборов реагентов с заявленной аналитической чувствительностью согласно инструкции 100 МЕ/мл для РНК ВГС и ДНК ВГВ при объеме экстракции из 100 мкл плазмы. Чувствительность теста, используемого для рутинного скрининга молекулярных маркеров вирусов, составляет 13,8 МЕ/мл для ДНК ВГВ и 40,8 МЕ/мл для РНК ВГС при тестировании в формате минипулов из 6 образцов, что позволяет осуществлять более полное выявление инфицированных образцов. Так, в 2013 г. выявлено 2 образца плазмы крови доноров с низкими уровнями ДНК ВГВ (менее $1,5 \times 10^2$ МЕ/мл), а в 2016 г. – 1 образец, в котором даже не удалось получить положительный сигнал при попытке количественно охарактеризовать уровень ДНК.

Низкие значения концентрации ДНК ВГВ зарегистрированы в $\frac{2}{3}$ образцов крови доноров, положительных по этому маркеру, а в $\frac{1}{5}$ части образцов концентрация находилась на пороговом уровне чувствительности тест-системы. Полученные данные подтверждают данные литературы о широком распространении скрытых форм ВГВ, для которых характерна низкая вирусная нагрузка [18, 22]. В отношении РНК ВГС отмечена противоположная закономерность. Низкие концентрации РНК ВГС определены в 27,5% образцов крови доноров. Высокие значения концентрации РНК ВГС определены в 72,55% случаев. Полученные данные свидетельствуют, что разведение в шесть раз при ПЦР-скрининге образцов плазмы доноров не критично для выявления РНК ВГС, поскольку большая часть образцов демонстрировала высокую вирусную нагрузку. В то же время отмечены низкие показатели ДНК ВГВ в большинстве исследованных образцов крови доноров, что может приводить к недовыявлению инфицированных ВГВ доз крови при тестировании в формате минипулов, что подтверждается результатами нашего экспериментального исследования, когда было недовыявлено более 40% пулов, содержащих ДНК ВГВ-позитивный образец. Пулирование исследуемых донорских образцов, безусловно, снижает экономические затраты на проведение анализа, но одновременно снижает чувствительность метода, приводя к подпороговым уровням концентрации ДНК ВГВ и, следовательно, оставляя их за аналитической чувствительностью используемой тест-системы.

Таким образом, ПЦР-исследование необходимо при обследовании доноров крови на наличие вирусных маркеров, поскольку позволяет наиболее полно выявить инфицированных лиц. Учитывая полученные нами данные по высокой частоте низких концентраций ДНК ВГВ (66,67% случаев), тестирование донорской крови методом ПЦР в формате минипулов может приводить к недовыявлению инфицированных образцов при использовании тест-систем, обладающих недостаточной чувствительностью.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Голосова Т.В., Туполева Т.А., Сомова А.В., Ярославцева Н.Г., Багрянцева С.Ю., Гуляева А.А., Овчинникова Е.Н., Филатов Ф.П. Оценка риска передачи вирусных инфекций при гемотрансфузиях. *Вестник службы крови России*. 2000; 2: 25–33.
- Карякин А.В., Терентьева Л.А. Статистика выявления антител к вирусу гепатита С среди доноров РФ. *Новое в трансфузиологии*. 2004; (38): 29–34.
- Куликов С.М., Гармаева Т.Ц., Зингерман Б.В., Филатов Ф.П., Судариков А.Б. и др. Вирусная безопасность гемотрансфузий и методы ее оценки. *Гематология и трансфузиология*. 2008; 53(4): 3–5.
- Белякова В.В., Гукасян И.А., Донская О.В., Иванова Н.В., Майорова О.А., Дашкова Н.Г., Рагимов А.А. Остаточные риски трансфузионно-трансмиссивной передачи ВИЧ-инфекции и вирусного гепатита С в Московском регионе при лабораторном скрининге донорской крови с использованием NAT-технологий. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59(1): 15–8.
- Губанова М.Н., Мадзаев С.Р., Аветисян К.С., Бахметьев А.В., Зарубин М.В., Караваев А.В. и др. Расчетный остаточный риск инфицирования при переливании крови. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59(1, Прил. 1): 89–90. <http://cyberleninka.ru/article/n/raschetnyy-ostatochnyy-risk-infitsirovaniya-pri-perelivani-nii-krovi#ixzz4lQqH9Pp>.
- Туполева Т.А., Богословская Е.В., Грумбкова Л.О., Башкирова Л.Ю., Зайцев В.С., Ярославцева Н.Г. и др. Использование ПЦР для детекции ВГВ и ВГС на станции переливания крови. В сборнике трудов 6-й Всероссийской конференции «Молекулярная диагностика 2007». Москва, 28–30 ноября 2007 г. 2007; 3: 230–8. <http://www.cmd-online.ru/upload/iblock/27c/ispolzovanie-ptsr-dlya-detektzii-vgv-i-vgs-na-stantsii-perelivaniya-krovi.pdf>.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Niederhauser C. Reducing the risk of hepatitis B virus transfusion-transmitted infection. *J. Blood Med.* 2011; 2: 91–102. doi: 10.2147/JBM.S12899.
- Holland P. Viral testing of blood donors: where will it end? VI regional European congress of the international society of Blood transfusion. Jerusalem; 1999.
- Ramsey G., Sherman L.A. Blood component recalls in the United States. *Transfusion*. 1999; 39(5): 473–8. doi: 10.1046/j.1537-2995.1999.39050473.x
- Schreiber G.B., Busch M.P., Kleinman S.H., Korelitz J.J. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. *N. Engl. J. Med.* 1996; 334(26): 1685–90. doi:10.1056/NEJM199606273342601.
- Rogers P.M., Saldanha J., Allain J.P. Report of EPFA/NIBSC workshop 'nucleic acid amplification tests (NAT) for the detection of blood-borne viruses' held on 31 October 1996 in Amsterdam, The Netherlands. *Vox Sang.* 1997; 72(4): 199–206. doi: 10.1046/j.1423-0410.1997.7240199.x.
- Golosova T.V., Tupoleva T.A., Somova A.V., Yaroslavl'tseva N.G., Bagryantseva S.Yu., Gulyaeva A.A., et al. Assessment of risk of transmission of viral infections in transfusion. *Bulletin of Russian blood service. Russian Journal (Vestnik sluzhby krovi Rossii)*. 2000; 2: 25–33. (in Russian)
- Karyakin A.V., Terent'eva L.A. Statistics detection of antibodies to hepatitis C virus among Russian donors. *New in Transfusiology. Russian Journal (Novoe v transfuziologii)*. 2004; (38): 29–34. (in Russian)
- Kulikov S.M., Garmaeva T.Ts., Zingerman B.V., Filatov F.P., Sudarikov A.B., et al. Viral safety of blood transfusions and methods of evaluation. *Gematology and transfuziologiya. Russian Journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2008; 53(4): 3–5. (in Russian)
- Belyakova V.V., Gukasyan I.A., Donskaya O.V., Ivanova N.V., Maiorova O.A., Dashkova N.G., Ragimov A.A. Residual risks of transfusion transmissible transfer of HIV infection and viral hepatitis C in the Moscow region in laboratory screening of donor blood by NAT technologies. *Gematology and transfuziologiya. Russian Journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2014; 59(1): 15–8. (in Russian)
- Gubanova M.N., Madzaev S.R., Aветисян K.C., Bakhmetiev A.V., Zarubin M.V., Karavaev A.V., et al. Estimated residual risk of infection through blood transfusion. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2014; 59(1, Suppl. 1): 89–90. <http://elibrary.ru/download/13332650.pdf>. (in Russian)
- Busch M.P., Rawal B.D., Feibig E.W., Operskalski E.A., Mosley J.W. Dynamics of HCV viremia and seroconversion in transfusion-acquired HCV infections. In: 51st Annual Meeting of the American Association of Blood Banks. Philadelphia, Pennsylvania. October 31–November 4, 1998 Abstracts. *Transfusion*. 1998; 38(10, Suppl): 72S.
- Cardoso M.S., Koerner K., Kubanek B. Mini-pool screening by nucleic acid testing for hepatitis B virus, hepatitis C virus, and HIV: preliminary results. *Transfusion*. 1998; 38(10): 905–7. doi:10.1046/j.1537-2995.1998.381098440853.x.
- Vermeulen M., Dickens C., Lelie N., Walker E., Coleman C., Keyter M., et al. 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): 880–92. doi:10.1111/j.1537-2995.2011.03355.x.
- Stramer S.L., Zou S., Notari E.P., Foster G.A., Krysztos D.E., Musavi F., Dodd R.Y. Blood donation screening for hepatitis B virus markers in the era of nucleic acid testing: are all tests of value? *Transfusion*. 2012; 52(2): 440–6. doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03283.x.
- Tseng T.C., Liu C.J., Yang H.C., Su T.H., Wang C.C., Chen C.L., et al. Determinants of spontaneous surface antigen loss in hepatitis B e antigen-negative patients with a low viral load. *Hepatology*. 2012; 55(1): 68–76. doi: 10.1002/hep.24615.
- Allison R.D., Conry-Cantilena C., Koziol D., Schechterly C., Ness P., Gible J., et al. A 25-year study of the clinical and histologic outcomes of hepatitis C virus infection and its modes of transmission in a cohort of initially asymptomatic blood donors. *J. Infect. Dis.* 2012; 206(5): 654–61. doi:10.1093/infdis/jis410.
- Chen D.S. Hepatitis B vaccination: the key towards elimination and eradication of hepatitis B. *J. Hepatol.* 2009; 50(4): 805–16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2009.01.002>.
- Hollinger F.B. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion*. 2008; 48(5): 1001–26. doi:10.1111/j.1537-2995.2008.01701.x.
- Carreño V., Bartolomé J., Castillo I., Quiroga J.A. New perspectives in occult hepatitis C virus infection. *Wld J. Gastroenterol.* 2012; 18(23): 2887–94. doi: 10.3748/wjg.v18.i23.2887.
- De Marco L., Gillio-Tos A., Fiano V., Ronco G., Krogh V., Palli D., et al. Occult HCV infection: an unexpected finding in a population unselected for hepatic disease. *PloS one*. 2009; 4(12): e8128. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0008128>.
- Tupoleva T.A., Bogoslovskaya E.V., Grumbkova L.O., Bashkirova L.Yu., Zaytsev V.S., Yaroslavl'tseva N.G., et al. The use of PCR for the detection of HBV and HCV in the blood transfusion station. In: Proceedings of the 6th All-Russian conference "Molecular Diagnostics 2007". Moscow, 28–30 November. 2007; 3: 230–8. (in Russian) <http://www.cmd-online.ru/upload/iblock/27c/ispolzovanie-ptsr-dlya-detektzii-vgv-i-vgs-na-stantsii-perelivaniya-krovi.pdf>.
- Kiely P., Margaritis A.R., Seed C.R., Yang H.; Australian Red Cross Blood Service NAT Study Group. Hepatitis B virus nucleic acid amplification testing of Australian blood donors highlights the complexity of confirming occult hepatitis B virus infection. *Transfusion*. 2014; 54(8): 2084–91. doi: 10.1111/trf.12556.

Поступила 07.09.16

Принята к печати 10.02.17