



ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КИРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ГЕПАТОЛОГИИ, ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 80-летию Заслуженного деятеля науки РФ, лауреата Государственной премии РФ, член-корреспондента РАМН, профессора Валентина Андреевича Журавлева



Киров
2011

Актуальные вопросы хирургической гепатологии, гастроэнтерологии и трансфузиологии: материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 80-летию Заслуженного деятеля науки РФ, лауреата Государственной премии РФ, член-корреспондента РАМН, профессора Валентина Андреевича Журавлева.- Киров, 2011. -148 с.

В сборнике публикуются материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, в которых отражены актуальные проблемы хирургической гепатологии, гастроэнтерологии и трансфузиологии. Выпуск посвящен 80-летию юбилею Заслуженного деятеля науки РФ, лауреата Государственной премии РФ, член-корреспондента РАМН, доктора медицинских наук, профессора В. А. Журавлева – выдающегося хирурга и ученого современности, внесшего весомый вклад в развитие хирургической трансфузиологии, гематологии и гепатологии, создателя вятской медицинской школы хирургов-гепатологов, организатора здравоохранения, первого и Почетного ректора Кировской государственной медицинской академии, Почетного гражданина г. Кирова и Кировской области. Издание адресовано врачам-практикам, ученым-медикам, студентам медицинских вузов. Тексты научных работ воспроизведены в авторской редакции.

Главный редактор:

И. В. Шешунов, ректор ГБОУ ВПО Кировская ГМА Минздравсоцразвития России, д.м.н., профессор.

Заместитель главного редактора:

Н. К. Мазина, проректор по научной и инновационной работе ГБОУ ВПО Кировская ГМА Минздравсоцразвития России, д.м.н., профессор.

Редакционная коллегия:

В. М. Русинов, доцент кафедры хирургии с курсом анестезиологии и реаниматологии Института последипломного образования ГБОУ ВПО Кировская ГМА Минздравсоцразвития России, к.м.н., доцент;
Е. Н. Касаткин, ученый секретарь ГБОУ ВПО Кировская ГМА Минздравсоцразвития России, к.м.н., доцент;
М. Е. Ковтунова, ученый секретарь ФГУ «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России», к.м.н., доцент.

метода продолжают совершенствоваться и предлагаемый минипул-NAT имеет лишь минимальное преимущество по сравнению с новыми HBsAg-ИФА-тестами.

Опубликовано много данных о том, что имеются немногочисленные донации, которые негативны по HBsAg, позитивны по анти-HBc и содержат ДНК ВГВ в очень низких концентрациях – 100 вирусных копий/мл или менее. В нашем исследовании встречались такие сыворотки (таблица 2), правда, это самая малочисленная группа 2 образца (4,3%). В работах гепатологов такие случаи носят название «скрытой» латентной HBsAg-негативной ВГВ-инфекции [4]. Объясняется это наличием «ускользающего» варианта вируса и низким уровнем репликации ВГВ и экспрессии вирусных белков.

Проанализировав сочетание трех маркеров ВГВ в плазме и/или сыворотке крови человека, полученные в нашем исследовании, можно сделать заключение, что тестирование на серологические маркеры HBsAg и анти-HBc позволило выявить образцы, инфицированные ВГВ. Применение чувствительной тест-системы на HBsAg в сочетании с анти-HBc тестированием обеспечивает необходимый низкий уровень остаточного риска 1:205000 [7].

На основании анализа полученных результатов можно сделать следующие выводы.

Выводы:

1. Используемые нами методы определения маркеров ВГС ИФА и ОТ-ПЦР взаимодополняли друг друга и позволили отобрать инфицированные образцы плазмы и сыворотки.

2. Применение ИФА для выявления серологических маркеров ВГВ – HBsAg и анти-HBc было достаточно эффективным и обеспечило отбор всех инфицированных образцов плазмы и сыворотки.

Список литературы:

1. NAT-минипул-геноскринирование крови на основе международных стандартов ВОЗ – гарантия вирусной и бактериальной безопасности реципиентов : российско-немецкий научно-методический сборник / Москва-Новосибирск-Франкфурт-на-Майне, 2003. 87 с.
2. Особенности выявления маркеров вируса гепатита В в плазме крови инфицированных доноров / Зубкова Н. В. [и др.] // Молекулярная диагностика-2010 : сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции, (г. Москва, 24 -26 ноября 2010 года). Москва, 2010. Т.1. С.332 – 335.
3. Сегодня и завтра генамплификационного тестирования донорской крови на патогены : сборник информационных материалов / Новосибирск, 2005. 59с.
4. Частота выявления скрытой ВГВ-инфекции среди доноров крови и в группах риска инфицирования ВГВ / Ганина А. А. [и др.] // Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика : материалы VII Российской научно-практической конференции с международным участием, (г. Москва, 29 -31 мая 2007 года). Москва, 2007. С. 16 – 18.
5. Comparative evaluation of the total hepatitis C virus core antigen, branched-DNA, and amplicor monitor assays in determining viremia for patients with chronic hepatitis C during interferon plus ribavirin combination therapy / Veillon P. [et al.] // J. of Clin.Microbiol. 2005. Vol.41, No.7. P. 3212 – 3220.
6. Detection of hepatitis C virus specific core protein in serum of patients by a sensitive fluorescence enzyme immunoassay (FEIA) / Kashiwakuma T. [et al.] // J. Immunol.Methods.1996. No.190. P.79 – 89.
7. Dodd R. Y., Notari E. P., Stramer S. L. Current prevalence and incidence of infections disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population // Trasfusion. 2002. N 42. P. 975-979.
8. Early detection of hepatitis C virus infection by use of a new combined antigen-antibody detection assay: potential use for high-risk individuals / Schnuriger A. [et al.] // J. of Clin. Microbiol. 2006. Vol.44, No.4. P. 1561 – 1563.
9. Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus (HCV) core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA / Tanaka E.[et al.] // Hepatology. 2000. Vol.32, No.2. P. 388 – 393.
10. Evaluation of the core antigen assay as a second-line supplemental test for diagnosis of active hepatitis C virus infection / Krajden M. [et al.] // J. of Clin. Microbiol. 2004.Vol.42, No.9. P. 4054 – 4059.
11. Flanegen P. Genomic screening of blood donation – The new dawn arrives // Vox Sanquinis. 1999. Vol.76, No. 3. P. 135 – 137.
12. Full or partial seroreversion in patients infected by hepatitis C virus / Lefrere J.J. [et al.] // J. Infect.Dis. 1997. Vol.175. P. 316 – 322.
13. Roth W. K., Weber M., Seifried E. Feasibility and efficacy of routine PCR screening of blood donations for hepatitis C virus, hepatitis B virus, and HIV-1 in a blood-bank setting // The Lancet. 1999. Vol. 353. P. 359 – 363.
14. Schreiber G., Busch M. P., Kleinman S. H.,and Korelitz J. J. The risk of transfusion-transmitted viral infections // New England Journal of Medicine. 1996. Vol.334. P. 1685 – 1690.
15. Usefulness of the hepatitis C virus core antigen assay for screening of a population undergoing routine medical checkup / Gaudy C. [et al.] // J. of Clin. Microbiol. 2005. Vol.43, No.4. P. 1722 – 1726.

Е. Б. Жибурт, Е. А. Шестаков, А. В. Караваяев, Н. Г. Филина

Новое в лабораторном звене службы крови

ФГУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова»

Минздравсоцразвития России, Москва

Введение. Правительство Российской Федерации утвердило правила и методы исследований и правила 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» (далее – Правила) [1].

Материал и методы исследования. Оценили соответствие Правил современным нормативно-правовым документам, регулирующим деятельность службы крови.

Результаты. Стратифицированы шесть групп решений, определенных Правилами:

- ожидаемые,
- новые,
- нуждающиеся в уточнении,

- ошибочные
- неясные
- отсутствующие.

Обсуждение.

Ожидаемые решения. Из обозначений групп крови по системе АВО исчезли римские цифры в скобках. Из перечня маркеров инфекционных заболеваний исключена активность сывороточной аланинаминотрансферазы.

Принятый в мире термин «донация» заменил отечественную «кроводачу».

Для первичного определения группы крови по системе АВО теперь нельзя использовать стандартные сыворотки – только моноклональные антитела.

Новые решения. Введено понятие «клинически значимые антигены групп крови». В системе АВО таких антигенов два, в системе Резус – пять и в системе Келл – 1. Обязательным стало определение слабых вариантов антигена D. Также обязательным стало типирование антигенов эритроцитов С, с, Е, е системы Резус – дважды на образцах крови каждого донора от разных донаций.

Допускается проведение исследования с целью одновременного определения наличия антител к вирусу гепатита С и антигена вируса гепатита С.

Также добровольно можно применять методы скрининга нуклеиновых кислот вирусов иммунодефицита человека, гепатитов В и С.

Решения, нуждающиеся в уточнении. Для выявления клинически значимых антител используют панель стандартных эритроцитов, состоящую не менее чем из 3 видов клеток, типированных по всем «клинически значимым» антигенам. Однако столь узкое типирование стандартных эритроцитов может привести к пропуску реально клинически значимых антител, которые приводят в реальным гемолитическим осложнениям (табл. 1).

Таблица 1. Группы крови, ассоциированные с гемолитическими трансфузионными реакциями [2]

Система группы крови	Специфичности
Обычно клинически значимые	
АВО, Н	А,В,Н
Диего	Di ^a , Di ^b , Wt ^a
Даффи	Все
Глобозид	P, P+P1+Pk
Ii	i (аллоантитело)
Келл	Все
Кидд	Все
MNS	S, s, U Некоторые антитела к комплексу Mi
Резус	Все
Vel	
Иногда клинически значимые	
Август	At ^a
Картрайт	Yt ^a
Колтон	Co ^a , Co ^b
Кромер	Cr ^a , Tc ^a
Домброк	Do ^a , Do ^b , Gy ^a , Hy ^a , Jo ^a
Гербич	Ge2, Ge3
Жиль	
Индиан	In ^b
Ландштейнер – Винер	LW ^a , LW ^b
Сцианна	Sc3
ХК	Kx
Иногда клинически значимые, если реактивны при 37 °С	
АВО	A1
Антон	AnWj
I	ИH, IA, IB, iH, IP1
Люис	Le ^a , Le ^a +Le ^b
Лютеран	Lu ^b
MNS	M, N
P	P1
Сид	Sd ^a

Вполне можно отказаться от предварительного определения группы крови по системе ABO у регулярных доноров. Это и сократит время, силы и средства, а также повысит комфорт донора – без укола в палец жить веселее.

Не совсем ясно, зачем проводить скрининг антиэритроцитарных аллоантител донорской крови у мужчин и женщин при каждой донации. Например, у здорового мужчины, сдающего плазму каждые две недели.

К напрасным трудо- и материальным затратам приведет необходимость обязательного определения у всех доноров антигенов C, c, E, e системы Резус. Для клиники эти антигены важны лишь при проведении индивидуального подбора крови небольшой доле реципиентов с антиэритроцитарными антителами. Впрочем, видимо кто-то этому правилу рад. Увеличится расход реагентов, больше нужно будет специалистов в лаборатории.

Причем типизируем мы вовсе не самые иммуногенные антигены. В таблице 2 представлены современные данные американских коллег о сравнительной иммуногенности антигенов эритроцитов (если иммуногенность антигена К принять за единицу).

Таблица 2. Сравнительная иммуногенность антигенов эритроцитов [3]

Антиген	Значение
К	1,000
Cw	0,700
Lua	0,400
Jka	0,370
E	0,350
V	0,210
Lea	0,160
P1	0,120
c	0,097
M	0,090
Leb	0,089
e	0,071
Fya	0,064
C	0,055
s	0,014
S	0,013
N	0,007
Fyb	0,005
Jkb	0,004

Заключение по результату подтверждающего исследования на маркеры ВИЧ «неспецифическая или сомнительная серологическая реакция» корректнее формулировать как «неопределенный результат» – так же возможный, как и положительный, и отрицательный результаты исследования.

Указано, что методы скрининга нуклеиновых кислот вирусов наиболее эффективны для обеспечения безопасности свежезамороженной плазмы, не прошедшей карантинизацию. Значит ли это, что обследованную подобным образом плазму можно выдавать без карантинизации и без вирусинактивации? А если не значит, то в чем тогда эффективность?

Ошибочные решения. В предложении «ранее группа крови по системе ABO определена дважды на образцах крови каждого донора от разных донаций с использованием перекрестного способа исследования со стандартными эритроцитами» пропущена запятая после слова «донаций».

Но это мелочь в сравнении с революционным новшеством – скрининг серологических маркеров инфекций предписано начинать не ранее чем через 18 часов после взятия крови.

Тем самым переливание тромбоцитов откладывается на сутки, в которые бороться с тромбоцитопеническим кровотечением придется в основном молитвой. А переливание гранулоцитов вовсе исключается, не оставляя шансов пациентам с некупируемым антибиотиками сепсисом и нейтропенией.

Нигде на планете подобного ограничения нет, все стремятся сократить срок пути компонента крови от донора к реципиенту.

Есть не упомянутые в Правилах технологии бактериологического скрининга концентратов тромбоцитов, предполагающие хранение клеток в течение суток. В это время бактерии, если они попали в контейнер, размножатся до количества, превышающего порог чувствительности метода.

Но в данном разделе Правил речь идет об антигенах вирусов и антителах, которые в пробирке не размножаются.

Ни одна методика скрининга донорской крови на инфекции в мире не предполагает минимальный срок хранения образца.

Не хочется думать, что авторы идеи – коллеги, которым неудобно выполнять во второй половине дня лабораторное обследование заготовленной утром крови. Теперь получается, что лаборатория также будет работать утром, на следующий день после заготовки крови. Возможно, у некоторых коллег качество жизни улучшится. Но ведь мы работаем не только для удовольствия, но и чтобы кого-нибудь вылечить. Задержка донорских клеток на сутки ухудшит прогноз пациентов, нуждающихся в трансфузионной поддержке. А тромбоциты, доставленные спустя двое суток после определения показаний к трансфузии, в некоторых случаях уже некому будет переливать.

В других развитых странах лаборатории службы крови работают 24 часа в сутки [4], иначе неэффективно использовать сложное оборудование. Наши лаборатории по национальному проекту получают очень современное оборудование. Но обследовать кровь будем, мягко говоря, не по мировым правилам.

Неясные решения. Не очень ясно, чем отличаются применение и исполнение технического регламента, упомянутые в заголовке.

Но в полный тупик ставит статья 4, предписывающая использовать для иммуногематологических исследований два метода: агглютинации и гемагглютинации. Этих слов нет ни в одном другом документе, изданном Правительством России.

Понять отличие одного метода от другого невозможно, поскольку речь идет об одном и том же. Если убрать эту статью вовсе, то содержание работы иммуногематолога не изменится. Как не изменится и содержание учебников, знакомящих студентов-медиков 2-3 курса с реакцией агглютинации.

Вводится новый термин – вакуумобразующие пробирки. Разумеется, вакуум образовали рабочие (чаще – китайские) на заводе по производству пробирок. По слову «вакуумобразующие» документ легко находится поисковыми системами в Интернете и в электронных базах нормативных документов.

Подробно перечислены все используемые в России методы лабораторного скрининга крови доноров. Это перечисление становится ненужным, поскольку нивелируется статьей 14, предписывающей использовать реагенты, зарегистрированные в установленном порядке. Но и статья 14 не нужна, поскольку Основами законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан установлено, что «В практике здравоохранения используются методы профилактики, диагностики, лечения, медицинской технологии, лекарственные средства, иммунобиологические препараты и дезинфекционные средства, разрешенные к применению в установленном законом порядке».

Аналогичные руководства других развитых стран содержат лишь перечень исследуемых маркеров. Поскольку порядок регистрации диагностических технологий для *in vitro* исследования донорской крови регламентирован другими документами.

Не подходит для современных пробирок регламентированный режим центрифугирования. Пробирки с активатором свертывания нужно центрифугировать 10 минут при 2000g, а пробирки с активатором свертывания и разделительным гелем – 10 минут при 2500g. То есть, установленные «10 - 15 минут при 1200g» подходят для пробирок, повышающих вероятность попадания взвешенных частиц в сыворотку или плазму. Корректнее было написать, что центрифугирование осуществляется в режиме, рекомендованном для конкретных пробирок

Неверна и рекомендация не центрифугировать повторно. Современные методы скрининга инфекций очень чувствительны и среагируют на тромбоцит, попавший в исследуемую плазму. Поэтому центрифугировать надо и сыворотку, и плазму, и образцы, повторно исследуемые спустя более чем 24 часа. В инструкциях к лучшим диагностическим процедурам четко определены и подчеркивается, что отклонение от определенной процедуры центрифугирования может дать ошибочные или несостоятельные результаты исследования. То есть строгое выполнение Правил увеличит риск ложноположительных результатов.

Отсутствующие решения. Не хватает определения «клинически значимых антител». Классически среди иммунных (или нерегулярных) антител клиническое значение имеют только те антитела, которые активны в непрямом антиглобулиновом тесте, выполняемом при +37 оС [5]. Хотя есть точка зрения, что при выявлении любых нерегулярных антител компоненты крови подлежат выбраковке (Скудицкий А.Е., 2011, персональное сообщение).

Неясно когда и как маркируется образец для исследований. Не предусмотрено архивирование образца плазмы или сыворотки донора.

Заключение. Правила посвящены лишь одному из объектов «трансфузионной цепи» – крови доноров. Технический регламент предполагает еще контроль качества компонентов крови, обследование и посттрансфузионный мониторинг реципиентов крови, а также лабораторное подтверждение совместимости крови донора и реципиента. В отношении этих объектов еще предстоит разработать методы исследований (испытаний) и измерений, в том числе правила отбора образцов, необходимых для применения и исполнения технического регламента.

Российскую службу крови ожидают новые нормативные документы – на благо здоровья россиян.

Список литературы:

1. Постановление Правительства РФ от 31 декабря 2010 г. №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»
2. Davenport R. D. Hemolytic transfusion reactions/ In: Popovsky M. A., ed. Transfusion reactions, 3rd edition.- Bethesda: AABB Press, 2007.- P.1 – 55
3. Zimring J. C., Spitalnik S. L. Alloimmunization to red cell antigens and management of alloimmunized patients/ In: Mintz P.D., ed. Transfusion therapy: clinical principles and practice, 3rd edition.- Bethesda: AABB Press, 2011.- P.631 – 642
4. Жибурт Е. Б., Ключева Е. А., Шестаков Е. А., Губанова М. Н. Опыт службы крови Японии// Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И.Пирогова.- 2010.- Т.5, №2.- С.103-107
5. Минеева Н. В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии.- СПб., 2004.- 188 с.