

СКРИНИНГ МАРКЕРОВ ИНФЕКЦИЙ У ДОНОРОВ КРОВИ

А. Т. Коденев, М. Н. Губанова, Е. Б. Жибурт

Краевая станция переливания крови, Краснодар

Краевая станция переливания крови, Ставрополь

Национальный медико-хирургический центр имени Н. И. Пирогова, Москва

Ключевые слова: донор крови, скрининг, инфекции

Keywords: blood donor, screening, infections

Введение

Обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов законом определено в качестве вида основной деятельности организаций службы крови [3].

Основной опасностью, привлекающей внимание общества, является передача с трансфузионной средой инфекций от донора к реципиенту. К наиболее опасным гемотрансмиссивным инфекциям относят ВИЧ и вирусные гепатиты В и С. Последним барьером на пути таких инфекций в сосудистое русло реципиента является лабораторное обследование донорской крови. Рациональная организация лабораторного обследования вносит существенный вклад в повышение экономической эффективности центра крови [4].

Наряду с высокой чувствительностью методов скрининга маркеров инфекций важна и специфичность. С тем, чтобы не допустить необоснованного отвода от донорства здоровых лиц и сокращения донорского контингента.

Порядок медицинского обследования донора крови и ее компонентов определяет необходимость скрининга при каждой донации поверхностного антигена вируса гепатита В, антител к вирусу гепатита С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2 [6].

Кроме того, с апреля 2008 года для доноров плазмы для фракционирования, определена необходимость дополнительного исследования: образцы плазмы с отрицательными результатами ИФА-тестов объединяют в минипулы и подвергают исследованию на наличие нуклеиновых кислот вирусов иммунодефицита человека, гепатитов В и С.

В реальной работе для лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции служба крови использует алгоритм, определенный Приказом Минздрава России от 30.07.2001 № 292 «Об использовании иммуноферментных тест-систем для выявления антител к ВИЧ в сыворотке крови человека».

Этот алгоритм предполагает три этапа исследования:

— проведение первичной лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции с помощью иммуноферментных тест-систем, выявляющих одновременно антиген и антитела к ВИЧ;

— проведение подтверждения результатов и арбитраж первичных исследований сывороток крови;

— постановку окончательного лабораторного анализа и подтверждения наличия антител к вирусу иммунодефицита человека методом иммунного блота [5].

Для проведения анализа по подтверждению наличия HBsAg и анти-ВГС обязательно использование подтверждающих тест-систем. Постановка окончательного лабораторного диагноза без подтверждения в одном из подтверждающих тестов запрещается [7].

К абсолютным противопоказаниям к донорству крови и ее компонентов (отвод от донорства независимо от давности заболевания и результатов лечения) относятся:

— СПИД, носительство ВИЧ-инфекции

— Вирусные гепатиты, положительный результат исследования на маркеры вирусных гепатитов (HBsAg, анти-HCV антител) [6].

С формальной точки зрения нужно отводить от донорства и лиц, перенесших вирусный гепатит А.

Нет однозначного алгоритма верификации ложноположительных результатов скрининга маркеров инфекций. В российской отчетности службы крови фигурирует лишь понятие «брак крови». Распространенность и встречаемость маркеров инфекций, как и частота ложноположительных результатов скрининга маркеров ВИЧ и вирусных гепатитов, — в официальных учетных и отчетных документах отсутствуют.

Известно, что чувствительность методов скрининга может быть выше чувствительности подтверждающих методов [1, 2]. Подтверждающие методы могут давать неопределенный результат.

Почти половина доноров с неопределенными результатами серологического скрининга (подтверждающий тест) антител к вирусу гепатита С находятся в состоянии перенесенного ВГС. Неопределенный результат обусловлен более быстрым исчезновением анти-ВГС по сравнению с ВГС-специфическими Т-клетками. Эти данные важны для консультирования доноров с неопределенными результатами скрининга. [8].

В нашей стране остается неясным, какие результаты и на каком этапе исследований являются основанием для выбраковки крови, временного и постоянного отвода доноров. Соответствующие рекомендации ВОЗ еще не внедрены [9].

Цель

Оценить частоту выявления маркеров ВИЧ и вирусных гепатитов В и С у доноров крови при скрининге и в подтверждающих тестах.

Материалы и методы

Изучены результаты скрининга и верификации маркеров ВИЧ и вирусных гепатитов В и С у доноров крови ГУЗ «Станция переливания крови» Департамента здравоохранения Краснодарского края, шести отделений переливания крови: Краснодарской краевой больницы № 1, Краснодарской городской клинической больницы скорой помощи, городской больницы № 2 «КМЛДО» и центральных районных больниц Усть-Лабинского, Динского, Северского районов.

Скрининг антигена/антител к ВИЧ — 1/2 проводился в образцах крови доноров всех перечисленных учреждений службы крови, маркеры гепатитов В и С самостоятельно исследовали в лаборатории ККБ № 1.

Для скрининга использовали тест-системы:

Vironostika HIV Uni-Fort II Ag/Ab (Organon tehnika, Нидерланды) (2006—2007 г.);

Genscreen ULTRA HIV Ag-Ab, (Bio-Rad, Франция) (65—70 % исследований с 2008 г.);

«КомбиБест ВИЧ — 1,2 АГ/АТ» («Вектор-Бест», Новосибирск);

«ДС — ИФА — ВИЧ — АГАТ — Скрин» («Диагностические системы», Нижний Новгород);

«ВИЧ — АГ/АТ — ИФА — Авиценна» («Авиценна», Москва);

«ВИЧ — 1,2 АГ/АТ Комбитест» («Ниармедик Плюс», Москва).

В интересах повышения безопасности реципиентов крови к первично положительным относили также результаты с оптической плотностью (ОП) от 70 до 100 % величины критической ОП («первично подозрительные»).

Верификацию результатов скрининга проводили в лаборатории регионального центра СПИД методом иммуноблотинга.

Для выявления (подтверждения) антигена ВИЧ — 1 (p24) использовали тест-системы:

«ДС — ИФА — ВИЧ — АГ» («Диагностические системы», Нижний Новгород);

«Genetic Systems HIV — 1 Ag confirmatory» (Bio-Rad, Франция).

Для скрининга анти-ВГС использовали тест-системы:

«ИФА — Анти — HCV» («Диагностические системы», Нижний Новгород);

«Monolisa HCV Ag — Ab ULTRA» (Bio-Rad, Франция);

«Mirex anti — HCV» (Abbott Laboratories, Германия)

Для подтверждения наличия анти-ВГС использовали тест-системы:

«ДС — ИФА — Анти — HCV — Спектр — ГМ» («Диагностические системы», Нижний Новгород);

«DECISCAN HCV PLUS» (Bio-Rad, Франция).

Образцы крови безвозмездных доноров, компоненты крови которых идут на выдачу в лечебную сеть без карантинизации, дополнительно исследовали методом полимеразной цепной реакции на наличие РНК ВГС с использованием тест-системы «Ам-

плисенси» (ЦНИИ эпидемиологии Минздравсоцразвития России).

Для скрининга HBsAg использовали тест-системы:

«ДС — ИФА — HBsAg» («Диагностические системы», Нижний Новгород);

«ДС — ИФА — HBsAg — 0,01» («Диагностические системы», Нижний Новгород);

«Вектор Вест — HBsAg», производство Ветор — Бест Новосибирск

«Monolisa HBsAg ULTRA» (Bio-Rad, Франция).

Для подтверждения HBsAg использовали тест-системы:

«ИФА — HBsAg — подтверждающий тест» («Диагностические системы», Нижний Новгород);

«Monolisa HBsAg confirmation» (Bio-Rad, Франция).

Статистическую обработку полученных данных провели с использованием дескриптивных статистик при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Вирус иммунодефицита человека

В течение трех лет наблюдения доля первично положительных результатов значительно сократилась (табл. 1).

Количество ВИЧ-положительных лиц среди потенциальных доноров увеличивается: в 2006 году — 0,0085 %, в 2007 году — 0,0136 %, а в 2008 году — 0,0272 %. Однако среди общего количества обследованных доноров можно констатировать лишь тенденцию к росту доли ВИЧ-инфицированных ($\chi^2 = 3,5$; $p = 0,0614$).

При этом доля начально реактивных лиц в 2007 году значимо, на 40,5 % сократилась по сравнению с 2006 годом ($\chi^2 = 8,54$; $p < 0,01$). В 2008 году, по сравнению с 2006 годом, снижение доли начально ре-

Таблица 1
Результаты скрининга ВИЧ у доноров в 2006—2008 гг.

Год	Всего исследованных	Начально реактивный		Начально реактивный		
		абс.	%	абс.	%	% верификации
2006	35405	183	0,52	42	0,12	22,95
2007	36792	137	0,37	34	0,09	24,82
2008	36828	126	0,34	20	0,05	15,87

Таблица 2
Результаты подтверждения ВИЧ методом иммуноблота у доноров в 2006—2008 гг.

Год	Направлено образцов	Подтверждено		Неопределенный результат	
		абс.	%	абс.	%
2006	42	3	7,14	2	4,76
2007	34	5	14,71	0	0
2008	20	10	50,00	0	0

Таблица 3

Результаты скрининга анти-ВГС у доноров в 2006—2008 гг.

Год	Всего исследований	Начально реактивный		Подтвержденный		
		абс.	%	абс.	%	% верификации
2006	26 185	407	1,55	315	1,20	77,40
2007	25 310	325	1,28	271	1,07	83,38
2008	2 5043	241	0,96	187	0,75	77,59

Таблица 4

Результаты скрининга РНК ВГС у безвозмездных доноров в 2006—2008 гг.

Год	Всего безвозмездных доноров	ВГС-позитивных в скрининге	
		Абс.	%
2006	878	9	1,03
2007	1720	17	0,99
2008	9090	21	0,23

Таблица 5

Результаты скрининга HBsAg у доноров в 2006—2008 гг.

Год	Всего исследований	Начально реактивный		Подтвержденный		
		абс.	%	абс.	%	% верификации
2006	26 185	229	0,87	140	0,53	61,14
2007	25 310	162	0,64	126	0,50	77,78
2008	25 043	128	0,51	106	0,42	82,81

активных результатов скрининга еще более существенно — на 52,9 % ($\chi^2 = 12,94$; $p < 0,001$).

Повторно реактивный результат регистрируется по итогам перестановки на той же тест — системе и на тест — системе другого производителя и подтверждает начальный в 15—23 % случаев. При этом процент верификации положительного результата начального исследования сократился на 44,6 %. Доля повторно реактивных результатов среди общего количества исследований с 2006 по 2008 гг. сократилась значительно — в 2,1 раза ($\chi^2 = 8,71$; $p < 0,01$). Однако значимых изменений доли положительных результатов перестановки скрининговых тестов в 2006—2008 гг. не зарегистрировано ($p > 0,05$). В 2008 году доля повторно реактивных результатов скрининга составила 50 %.

Подтверждение положительных результатов скрининга проводится методом иммуноблота. Доля подтвержденных результатов возросла в течение трех лет более чем в семь раз (табл. 2). В 2007 и 2008 гг. не зарегистрировано неопределенных результатов иммуноблота.

Вирус гепатита С

Распространенность позитивных результатов скрининга и подтверждающего теста на наличие ан-

ти-ВГС в 2006—2008 гг. сокращались параллельно — на 61,5 % и 60 %, соответственно (табл. 3).

Следует учесть, что повторное выявление реактивного образца в скрининговой тест-системе отечественными нормативными документами не предусмотрено.

По итогам подтверждающего теста доля анти-ВГС-позитивных доноров в 2007 году по сравнению с 2006 годом сократилась на 12,1 %, что статистически не значимо. В 2008 году зарегистрировано значимое сокращения выявляемости анти-ВГС как по сравнению с 2007 годом — на 42,7 % ($\chi^2 = 14,66$; $p < 0,001$), так и по сравнению с 2006 годом — на 60 % ($\chi^2 = 27,46$; $p < 0,001$).

При подтверждающем исследовании наличие анти-ВГС не верифицируется в 15—25 % случаев. В 2007 году доля ложноотрицательных первичных результатов скрининга сократилась по сравнению с 2006 годом на 36,0 % ($\chi^2 = 4,06$; $p = 0,0439$). В 2008 году эта доля вновь возросла на 25,8 %, однако это изменение не значимо ($\chi^2 = 3,01$; $p = 0,083$).

Поскольку компоненты крови от доноров, сдающих кровь безвозмездно не закладываются на карантинизацию (доноры отказываются от повторной явки в установленные сроки), принято решение дополнительно обследовать их кровь на РНК вируса гепатита С методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В 2006—2008 гг. зарегистрировано:

- совпадение позитивных результатов скрининга крови безвозмездных доноров методами ИФА и ПЦР (9, 17 и 21 случай, соответственно);

- увеличение контингента безвозмездных доноров в 10,4 раза;

- сокращение доли ВГС-позитивных безвозмездных доноров в 4,5 раза, связанное с рекрутированием наиболее здоровой части общества, отсевом лиц с факторами риска на этапах, предшествующих лабораторному исследованию (табл. 4).

Вирус гепатита В

Доля HBsAg-положительных результатов первичного ИФА-скрининга не превышает 1 % общего количества донаций и с 2006 по 2008 год сократилась на 29,4 %. Как и в случае с анти-ВГС повторное выявление реактивного образца в скрининговой тест-системе на HBsAg отечественными нормативными документами не предусмотрено. В подтверждающем тесте не верифицируется 18-39 % положительных результатов первичного скрининга. При этом доля верифицированных положительных результатов первичного скрининга с 2006 по 2008 год возросла на 31,4 % (табл. 5).

Заключение

Систематическая работа по привлечению добровольных безвозмездных доноров приводит к сокращению распространенности маркеров гепатитов В и С в донорском контингенте — менее 1 %.

Распространенность ВИЧ-инфекции среди потенциальных доноров достигла 0,03 % в связи с активизацией гетеросексуальной передачи ВИЧ.

Целесообразно разработать дифференцированные алгоритмы выбраковки крови (по результатам

двухэтапного иммуноферментного скрининга) и менеджмента доноров (по результатам подтверждающего исследования).

Резюме: Оценили частоту выявления маркеров ВИЧ и вирусных гепатитов В и С у доноров крови при скрининге и в подтверждающих тестах.

Систематическая работа по привлечению добровольных безвозмездных доноров приводит к сокращению распространенности маркеров гепатитов В и С в донорском контингенте — менее 1 %.

Распространенность ВИЧ-инфекции среди потенциальных доноров достигла 0,03 % в связи с активизацией гетеросексуальной передачи ВИЧ.

Целесообразно разработать дифференцированные алгоритмы выбраковки крови (по результатам двухэтапного иммуноферментного скрининга) и менеджмента доноров (по результатам подтверждающего исследования).

Abstract: Rate of HIV and viral hepatitis markers was evaluated among blood donors by screening and confirmatory assays.

Systemic recruiting of voluntary nonremunerated blood donors leads to decreasing of prevalence of viral hepatitis markers among blood donors below 1 %.

HIV infection prevalence among potential donors come up to 0,03 % due to heterosexual transmission stripping up.

There is appear to be sufficient reasons for development algorithm for blood wastage (after two-steps ELISA) and donor management (after confirmatory assay).

Список литературы

1. Баранова Е. И., Шарипова И. Н., Денисова Н. М. и др. Возможности современных тест-систем для подтверждения ранней ВИЧ-инфекции // Вопр. вирусологии. — 2009. — Т. 54, № 5. — С. 37—40.

2. Жибурт Е. Б., Асади А. Х., Черкасов Е. Г., Кузнецова Е. В. Иммуноблот в подтверждении результатов скрининга антител к вирусу гепатита С у доноров крови // Вопр. вирусологии. — 2004. — Т. 49, № 6. — С. 44—46.

3. Закон Российской Федерации от 9 июня 1993 года № 5142-1 «О донорстве крови и ее компонентов».

4. Коденев А. Т., Губанова М. Н., Жибурт Е. Б. Скрининг доноров повышает экономическую эффективность заготовки крови // Экономика здравоохранения. — 2009. — № 9. — С. 18—21.

5. Приказ Минздрава России от 30.07.2001 № 292 «Об использовании иммуноферментных тест-систем для выявления антител к ВИЧ в сыворотке крови человека».

6. Приказ Минздрава России от 14.09.2001 № 364 «Об утверждении Порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов».

7. Приказ Минздрава России от 21.10.2002 № 322 «О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-ВГС) в сыворотке крови человека».

8. Hitziger T., Schmidt M., Schottstedt V. et al. Cellular immune response to hepatitis C virus (HCV) in non-viremic blood donors with indeterminate anti-HCV reactivity // Transfusion. — 2009. — Vol. 49, № 7. — P. 1306—1313.

9. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections. Recommendations. - Geneva: WHO, 2009: 66 p.

СИСТЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА НА СТРАЖЕ БЕЗОПАСНОСТИ ГЕМОТРАНСФУЗИОННЫХ СРЕДСТВ

Р. Г. Гильмутдинов, Т. А. Ефашикина, А. М. Ишибулдина

Государственное учреждение здравоохранения «Оренбургская областная станция переливания крови»

Ключевые слова: безопасность, качество, донорские кадры, отвод доноров, медицинские технологии.

Keywords: safety, quality, donor stag top of donors, medical technologies.

Основной задачей Службы крови является обеспечение лечебно-профилактических учреждений качественными, безопасными, эффективными гемотрансфузионными средствами. И для соответствия задачам и требованиям времени в современных условиях является актуальным создание Системы обеспечения качества в Службе крови.

Цель данной статьи — показать опыт работы Системы обеспечения качества в ГУЗ «Оренбургская областная станция переливания крови».

Система обеспечения качества в ГУЗ «ОСПК» организована в 2006 году, возглавляет ее заместитель главного врача по контролю качества производства компонентов и препаратов крови.