

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

№ 1 (17)

2017

ИНФОРМАЦИОННО-РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	3
Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)	3
Лабораторная диагностика гепатита В	8
Фисенко Н.С., Шальнова Е.Е., Обрядина А.П. Уникальные разработки сотрудников НПО «Диагностические системы» в области лабораторной диагностики гепатита В, представленные на международном уровне	8
Птицына Ю.С., Обрядина А.П., Шальнова Е.Е. Научные и практические аспекты лабораторной диагностики оккультного гепатита В	17
Лабораторная диагностика гепатита С	25
Обрядина А.П., Бочкова Г.Б., Загрядская Ю.Е. Участие НПО «Диагностические системы» в международных мероприятиях с оригинальными научными разработками в области лабораторной диагностики гепатита С	25
Гепатиты В и С у беременных женщин	35
Фисенко Н.С., Шальнова Е.Е., Обрядина А.П. Парентеральные гепатиты В и С и их сочетания с другими инфекциями у беременных женщин	35
Вопросы качества лабораторных исследований	43
Нормативные документы	49

Учредитель: ООО Научно производственное объединение «Диагностические системы»

Главный редактор Шальнова Е.Е.

Адрес редакции

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

Тел./факс (831) 434-86-83, 467-82-15

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

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

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

Сдано в набор 08.11.2017

Подписано в печать 11.12.2017

Тираж 1500 экземпляров.

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

Распространяется бесплатно. Коммерческое использование запрещено.

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

Обрядина А.П. (д.б.н.)

Пименов В.К. (к.б.н.)

Кувшинов М.В. (к.м.н.)

Бочкова Г.Б. (к.т.н.)

Шальнова Е.Е.

Голубева И.Ф.

Фисенко Н.С.

Поляков С.Ю.

"Прогресс науки определяется трудами ее ученых
и ценностью их открытий"
Луи Пастер

Уважаемые читатели!

Предлагаем вашему вниманию очередной номер информационно-реферативного журнала «Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний», посвященный актуальным вопросам диагностики гепатитов В и С. На страницах нашего журнала вы сможете ознакомиться с дайджестами современных научных публикаций отечественных и зарубежных авторов.

Традиционно номер открывает общий раздел «Социально-эпидемиологическая и статистическая информация», в котором приведены статистические материалы о состоянии инфекционной и паразитарной заболеваемости населения Российской Федерации за период 2015-2016 гг. и первое полугодие 2017 г. Особый акцент сделан на динамике заболеваемости острыми и хроническими гепатитами В и С в стране.

Раздел «Оригинальные исследования» включает два эксклюзивных дайджеста научных трудов ведущих специалистов НПО «Диагностические системы», представленных в разные годы на значимых международных конгрессах и симпозиумах. В них собраны материалы оригинальных научно-исследовательских работ, в том числе нескольких работ, выполненных в соавторстве с зарубежными коллегами. Тематика исследований затрагивает некоторые теоретические и практические аспекты совершенствования лабораторной диагностики парентеральных гепатитов на современном этапе.

В одном из дайджестов освещены основные результаты целого ряда экспериментов в области лабораторной диагностики гепатита В. Особое внимание уделено исследованию влияния гетерогенности аминокислотной последовательности на антигенные свойства «диких» субтипов и мутантных форм HBsAg и изучению возможности использования рекомбинантных вариантов HBsAg для оценки диагностической эффективности ИФА тест-систем, предназначенных для выявления HBsAg. Несколько работ посвящены разработкам ИФА тест-системы с повышенной чувствительностью «ДС-ИФА-HBsAg-0,01», предназначенной для детекции HBsAg в сыворотке или плазме крови человека, изучению ее диагностических возможностей и оценке эффективности для различных лабораторных и клинических ситуаций, в том числе для повышения качества скрининга донорской крови и выявления оккультной ВГВ-инфекции у пациентов с коинфекцией ВГВ/ВИЧ и ВГВ/ВГС.

Другой дайджест содержит значительный сегмент оригинальных научных работ сотрудников компании, посвященный созданию высокочувствительных и специфичных диагностических ИФА тест-систем для лабораторной диагностики гепатита С. Представлены наиболее перспективные исследования по изучению: антигенных свойств и выявлению антигенных детерминант нативных белков ВГС с использованием моноклональных антител к рекомбинантным белкам NS3 и NS4 ВГС; варибельности антигенных

свойств core – белка вируса и оценке диагностической значимости определения core и NS3 белков; влияния аминокислотной последовательности на антигенные свойства белков ВГС с применением рекомбинантных белков, полученных от ВГС разных генотипов; возможности использования в иммуноанализе мультиплексных микросфер с сорбированными на них рекомбинантными антигенами ВГС и ряд других. Результаты проведенных исследований явились основой для разработок и промышленного выпуска высококачественных диагностических препаратов нового поколения, отвечающих требованиям международных стандартов.

В разделе «Лабораторная диагностика гепатитов В и С» вниманию читателей предлагается дайджест современных публикаций отечественных и зарубежных авторов о наиболее значимых научных и практических аспектах лабораторной диагностики оккультного гепатита В. Большинство исследований в данной области представляют несомненный профессиональный интерес для широкого круга ученых и специалистов медико-биологического профиля и могут быть полезны для решения проблем практического здравоохранения.

Не менее познавателен, на наш взгляд, и дайджест ряда публикаций последнего времени, посвященных проблеме парентеральных гепатитов В и С (и их сочетаний с другими инфекциями) у беременных женщин. Нашли отражение результаты исследований по изучению их распространенности среди указанной категории лиц в различных странах мира (в том числе и в России), выявлению факторов риска инфицирования самой женщины и вертикальной передачи инфекции ребенку, обсуждению вопросов обязательного антенатального скрининга на гепатит С в период беременности за рубежом и необходимости разработки и внедрения превентивных мер по охране здоровья матери и ребенка.

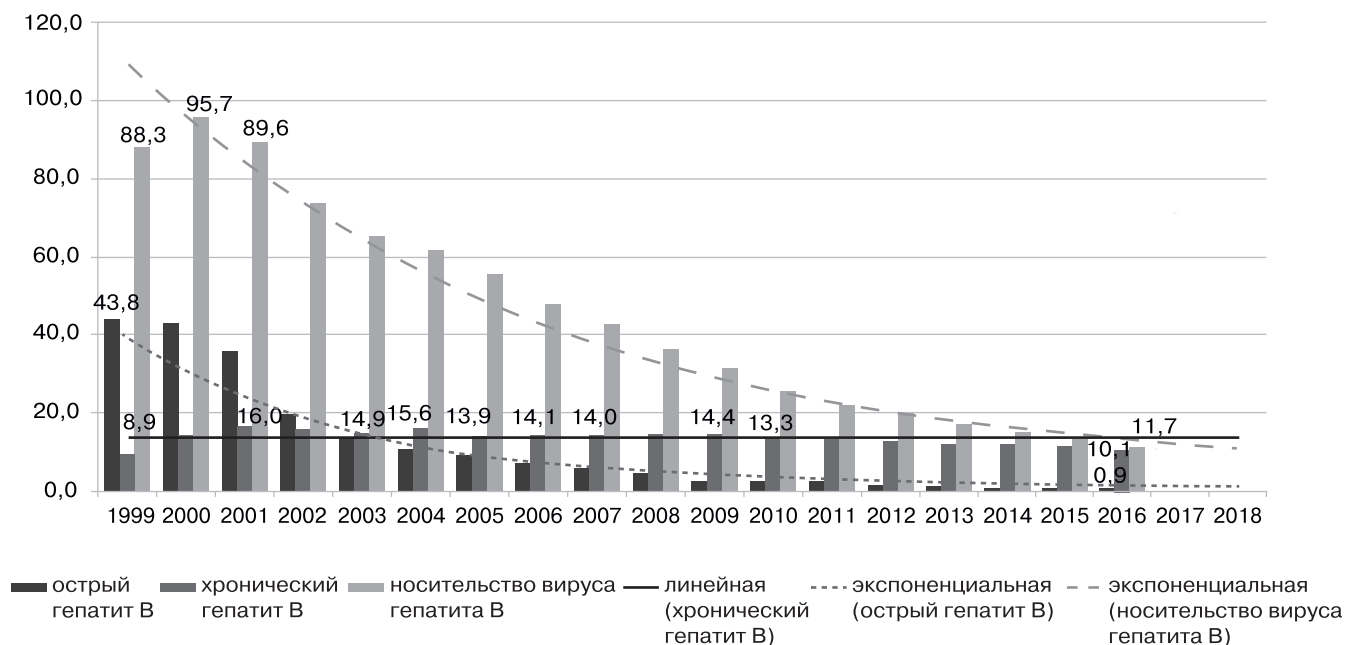
В рубрике журнала «Вопросы качества лабораторных исследований» публикуем выдержки из информационно-методического пособия «Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе», подготовленного силами сотрудников ООО «НПО «Диагностические системы». Основной акцент сделан на важности проведения внутрилабораторного контроля качества исследований при постановке ИФА.

В разделе «Нормативные документы» приводим перечни основных, актуальных на текущий момент времени, нормативных правовых актов Российской Федерации в сфере лабораторной диагностики гепатитов В и С.

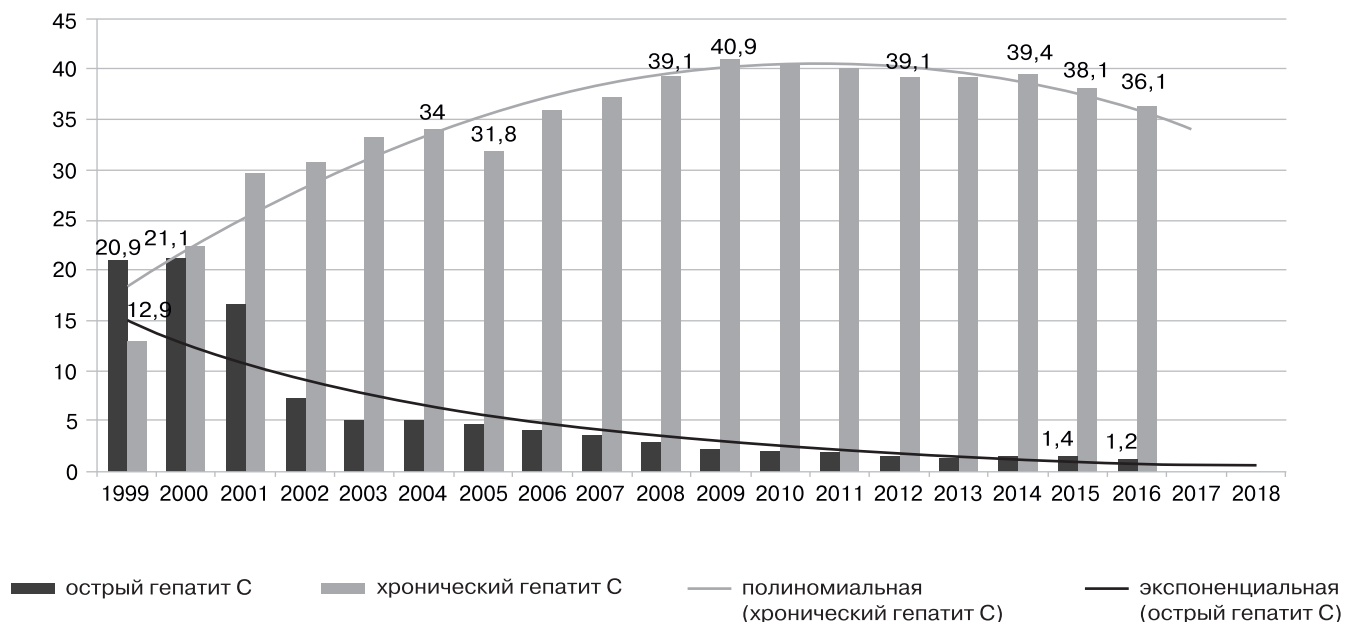
Надеемся, что опубликованные в нашем издании материалы будут полезны широкому кругу профильных специалистов, позволят им быть в курсе современных тенденций, новых научных разработок и достижений в лабораторной диагностике заболеваний человека.

Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)

ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОСТРЫМ ГЕПАТИТОМ В, ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В И НОСИТЕЛЬСТВА ГЕПАТИТА В, НА 100 000 НАСЕЛЕНИЯ *)



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



* Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году»

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

Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях*
(за январь—декабрь 2016 г., Российская Федерация)

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2016						Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2015						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Брюшной тиф	13	0,01	1	0,00	1	0,00	29	0,02	5	0,02	4	0,02				-2,2 раз	-4 сл.
Другие сальмонеллезные инфекции	38103	26,08	18059	64,33	17084	70,99	37026	25,39	18164	65,91	17328	73,87	2,7%	-2,4%	-3,9%		
Бактериальная дизентерия (шигеллез)	9655	6,61	5666	20,18	5269	21,90	10001	6,86	6025	21,86	5671	24,18	-3,6 %	-7,7%	-9,4%		
Острые кишечные инфекции, вызванные установленными бактериальными, вирусными возбудителями, а также пищевые токсикоинфекции установленной этиологии	250033	171,15	203717	725,73	199532	829,17	245236	168,14	200365	727,05	196522	837,77	1,8%	-0,2%	-1,0%		
Острые кишечные инфекции, вызванные неустановленными инфекционными возбудителями, пищевые токсикоинфекции неустановленной этиологии	594119	365,61	334082	1190,15	317854	1320,86	505279	346,42	313578	1137,86	298448	1272,28	5,5%	4,6%	3,8%		
Острый паралимпический полиомиелит, включая ассоциированный с вакциной	1	0,00	1	0,00	1	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1 сл.	1 сл.	1 сл.		
Острые вялые параличи	300	0,21	300	1,07	297	1,23	304	0,21	303	1,10	303	1,29	- 4 сл.	-3 сл.	-6 сл.		
Энтеровирусные инфекции	14329	9,81	12915	46,01	12481	51,87	7850	5,38	7078	25,68	6837	29,15	1,8 раз	1,8 раз	1,8 раз		
из них энтеровирусный менингит	4367	2,99	3794	13,52	3537	14,70	2994	2,05	2524	9,16	2360	10,06	45,6%	47,6%	46,1%		
Острые вирусные гепатиты всего	10026	6,86	2638	9,40	2312	9,61	10648	7,30	2826	10,25	2401	10,24	-6,0%	-8,4%	-6,1%		
из них: острый гепатит А	6419	4,39	2498	8,90	2209	9,18	6428	4,41	2671	9,69	2283	9,73	- 9 сл.	- 8,2%	- 5,7%		
острый гепатит В	1380	0,94	20	0,07	11	0,05	1644	1,13	23	0,08	15	0,06	-16,2%	-3 сл.	-4 сл.		
острый гепатит С	1807	1,24	69	0,25	55	0,23	2096	1,44	80	0,29	62	0,26	-13,9%	-15,3%	-7 сл.		
острый гепатит Е	113	0,08	6	0,02	5	0,02	96	0,07	3	0,01	3	0,01	17,5%	3 сл.	2 сл.		
Хронические вирусные гепатиты (впервые установленные)—всего	68004	46,55	591	2,11	393	1,63	71744	49,19	739	2,68	456	1,94	-5,4%	-21,5%	-16,0%		
из них: хронический вирусный гепатит В	14807	10,14	119	0,42	61	0,25	15739	10,79	161	0,58	70	0,30	-6,1%	27,4%	-9 сл.		
хронический вирусный гепатит С	52887	36,20	461	1,64	321	1,33	55491	38,04	565	2,05	375	1,60	-4,8%	-19,9%	-16,6%		
Носительство возбудителя вирусного гепатита В	17104	11,71	128	0,46	72	0,30	20249	13,88	233	0,85	138	0,59	-15,7%	-46,1%	-49,1%		
Дифтерия	2	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,00	1	0,00	1	0,00		-1 сл.	-1 сл.		
Коклюш	8229	5,63	7929	28,25	7670	31,87	6447	4,42	6225	22,59	6020	25,66	27,4%	25,1%	24,2%		
Корь	162	0,11	97	0,35	96	0,40	840	0,58	353	1,28	329	1,40	-5,2 раз	-3,7 раз	-3,5 раз		
Краснуха	44	0,03	6	0,02	5	0,02	20	0,01	4	0,01	4	0,02	2,2 раз	2 сл.	1 сл.		
Паротит эпидемический	1108	0,76	630	2,24	508	2,11	193	0,13	92	0,33	83	0,35	5,7 раз	6,7 раз	6,0 раз		
Менингококковая инфекция	742	0,51	545	1,94	520	2,16	977	0,67	683	2,48	658	2,81	-24,2%	-21,7%	-23,0%		
из нее генерализованные формы	630	0,43	482	1,72	460	1,91	845	0,58	608	2,21	584	2,49	-25,6%	-22,2%	-23,2%		
Ветряная оспа	795594	544,59	750414	2673,31	728457	3027,15	819828	562,08	772520	2803,19	750269	3196,39	-3,1%	-4,6%	-5,4%		
Туляремия	123	0,08	25	0,09	20	0,08	67	0,05	4	0,01	1	0,00	1,8 раз	6,1 раз	19,5 раз		
Сибирская язва	36	0,02	18	0,06	15	0,06	3	0,00	0	0,00	0	0,00	12,0 раз	18 сл.	15 сл.		
Бруцеллез, впервые выявленный	334	0,23	31	0,11	21	0,09	394	0,27	27	0,10	14	0,06	-15,4%	4 сл.	7 сл.		

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2016						Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2015						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Вирусные лихорадки, передаваемые членистоногими и вирусные геморрагические лихорадки	6473	4,43	242	0,86	139	0,58	9513	6,52	335	1,22	203	0,87				-32,1%	-29,1%
из них: лихорадка Западного Нила	134	0,09	7	0,02	7	0,03	41	0,03	4	0,01	4	0,02	3,3 раз	3 сл.	3 сл.		
Крымская геморрагическая лихорадка	162	0,11	4	0,01	4	0,02	139	0,10	2	0,01	1	0,00	16,4%	2 сл.	3 сл.		
геморрагическая лихорадка с почечным синдромом	6021	4,12	221	0,79	119	0,49	9201	6,31	321	1,16	192	0,82	-34,7%	-32,4%	-39,6%		
Клещевой вирусный энцефалит	2035	1,39	273	0,97	240	1,00	2308	1,58	295	1,07	261	1,11	-12,0%	-9,1%	-10,4%		
Клещевой боррелиоз (болезнь Лайма)	6103	4,18	675	2,40	608	2,53	7359	5,05	727	2,64	666	2,84	-17,2%	-8,8%	-11,0%		
Псевдотуберкулез	728	0,50	479	1,71	444	1,85	1116	0,77	770	2,79	725	3,09	-34,9%	-38,9%	-40,3%		
Лептоспироз	166	0,11	8	0,03	6	0,02	128	0,09	6	0,02	5	0,02	29,5%	2 сл.	1 сл.		
Бешенство	5	0,00	1	0,00	1	0,00	6	0,00	2	0,01	1	0,00	-1 сл.	-1 сл.			
Укусы, ослонения, оцарапывания животными	380664	260,57	114550	408,08	101098	420,12	392215	268,90	114521	415,55	101406	432,29	-3,1%	-1,8%	-2,8%		
Укусы клещами	480098	328,63	117272	417,78	105794	439,63	542512	371,95	129030	468,20	116621	497,15	-11,6%	-10,8%	-11,6%		
Риккетсиозы	2055	1,41	513	1,83	483	2,01	2009	1,38	505	1,83	480	2,05	2,1%	8 сл.	3 сл.		
из них: эпидемический сыпной тиф	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
болезнь Брилла	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
лихорадка Ку	96	0,07	16	0,06	15	0,06	49	0,03	8	0,03	8	0,03	2,0 раз	8 сл.	7 сл.		
сибирский клещевой тиф	1548	1,06	415	1,48	394	1,64	1491	1,02	437	1,59	417	1,78	3,7%	-6,8%	-7,9%		
астраханская пятнистая лихорадка	299	0,20	61	0,22	55	0,23	314	0,22	45	0,16	41	0,17	-4,9%	33,1%	30,8%		
гранулоцитарный анаплазмоз человека	53	0,04	9	0,03	8	0,03	115	0,08	10	0,04	9	0,04	-2,2 раз	-1 сл.	-1 сл.		
моноцитарный эрлихиоз человека	20	0,01	8	0,03	7	0,03	18	0,01	3	0,01	3	0,01	2 сл.	5 сл.	4 сл.		
Педикулез	212744	145,62	55392	197,33	52126	216,61	243502	166,95	61534	223,28	58182	248,03	-12,8%	-11,6%	-12,7%		
Туберкулез (впервые выявленный) активные формы	72639	49,72	3666	13,06	2716	11,29	77650	53,24	3972	14,41	2942	12,54	-6,6%	-9,4%	-10,0%		
из него туберкулез органов дыхания	70134	48,01	3427	12,21	2502	10,40	74911	51,36	3689	13,39	2691	11,47	-6,5%	-8,8%	-9,4%		
из него бациллярные формы	31640	21,66	322	1,15	106	0,44	32775	22,47	322	1,17	101	0,43	-3,6%	-1,8%	5 сл.		
Сифилис (впервые выявленный)—все формы	29916	20,48	415	1,48	136	0,57	33445	22,93	556	2,02	195	0,83	-10,7%	-26,7%	-32,0%		
Гонококковая инфекция	20669	14,15	540	1,92	73	0,30	26501	18,17	734	2,66	90	0,38	-22,1%	-27,8%	-20,9%		
Болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и бессимптомный инфекционный статус, вызванный ВИЧ	87670	60,01	1162	4,14	857	3,56	86599	59,37	1222	4,43	897	3,82	1,1%	-6,6%	-6,9%		
Острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации	31706594	21703,38	22992895	81910,93	21340333	88681,04	30130692	20657,76	21903716	79480,42	20346949	86738,80	5,1%	3,1%	2,2%		
Грипп	88717	60,73	32715	116,55	30153	125,30	49671	34,05	24113	87,50	21130	90,08	1,8 раз	33,2%	39,1%		
Пневмония (внебольничная)	611082	418,29	197256	702,71	186888	776,62	492660	337,77	165373	600,08	157106	669,74	23,8%	17,1%	16,0%		
Малярия впервые выявленная	101	0,07	1	0,00	1	0,00	94	0,06	4	0,01	3	0,01	7 сл.	-3 сл.	-2 сл.		
Трихинеллез	139	0,10	17	0,06	14	0,06	35	0,02	4	0,01	3	0,01	4,0 раз	4,2 раз	4,5 раз		
Поствакцинальные осложнения	220	0,15	199	0,71	195	0,81	205	0,14	184	0,67	175	0,75	7,1%	6,2%	8,6%		

* Используются материалы Роспотребнадзора РФ / http://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/statictic_details.php?ELEMENT_ID=7804

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

Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях*
(за январь—август 2017 г., Российская Федерация)

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—август 2017						Зарегистрировано заболеваний за январь—август 2016						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Брюшной тиф	20	0,01	2	0,01	2	0,01	10	0,01	1	0,00	1	0,00				2,0 раз	1 сл.
Другие сальмонеллезные инфекции	22041	15,05	11033	38,46	10544	42,71	27487	18,82	13062	46,53	12356	51,35	-20,0%	-17,3%	-16,8%		
Бактериальная дизентерия (шигеллез)	3991	2,73	2347	8,18	2210	8,95	5083	3,48	2988	10,64	2807	11,66	-21,7%	-23,1%	-23,3%		
Острые кишечные инфекции, вызванные установленными бактериальными, вирусными возбудителями, а также пищевые токсикоинфекции установленной этиологии	182422	124,60	148338	517,11	145337	588,69	178374	122,10	147338	524,88	144621	600,98	2,0%	-1,5%	-2,0%		
Острые кишечные инфекции, вызванные неустановленными инфекционными возбудителями, пищевые токсикоинфекции неустановленной этиологии	352224	240,58	228130	795,26	217147	879,56	360469	246,74	224176	798,61	213846	888,65	-2,5%	-0,4 %	-1,0 %		
Острый паралимпический полиомиелит, включая ассоциированный с вакциной	2	0,00	2	0,01	2	0,01	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2 сл.	2 сл.	2 сл.		
Острые вялые параличи	121	0,08	121	0,42	120	0,49	129	0,09	129	0,46	129	0,54	-8 сл.	-8 сл.	-9 сл.		
Энтеровирусные инфекции	9555	6,53	8713	30,37	8475	34,33	6599	4,52	5943	21,17	5777	24,01	44,5%	43,5%	43,0%		
из них энтеровирусный менингит	2423	1,65	2080	7,25	1943	7,87	1990	1,36	1722	6,13	1615	6,71	21,5%	18,2%	17,3%		
Острые вирусные гепатиты всего	8783	6,00	1512	5,27	1241	5,03	6010	4,11	1203	4,29	1019	4,23	45,8%	23,0%	18,7%		
из них: острый гепатит А	6443	4,40	1437	5,01	1187	4,81	3593	2,46	1118	3,98	959	3,99	1,8 раз	25,8%	20,6%		
острый гепатит В	868	0,59	10	0,03	8	0,03	937	0,64	14	0,05	6	0,02	-7,6%	-4 сл.	2 сл.		
острый гепатит С	1209	0,83	36	0,13	25	0,10	1203	0,82	41	0,15	30	0,12	6 сл.	-5 сл.	-5 сл.		
острый гепатит Е	99	0,07	7	0,02	4	0,02	74	0,05	2	0,01	2	0,01	33,5%	5 сл.	2 сл.		
Хронические вирусные гепатиты (впервые установленные) – всего	43915	30,00	396	1,38	259	1,05	45785	31,34	390	1,39	253	1,05	-4,3%	6 сл.	6 сл.		
из них: хронический вирусный гепатит В	9429	6,44	75	0,26	39	0,16	10016	6,86	85	0,30	41	0,17	-6,1%	-13,7%	-2 сл.		
хронический вирусный гепатит С	34270	23,41	317	1,11	216	0,87	35574	24,35	301	1,07	208	0,86	-3,9%	3,1%	8 сл.		
Носительство возбудителя вирусного гепатита В	10075	6,88	83	0,29	61	0,25	11533	7,89	98	0,35	52	0,22	-12,8%	-17,1%	9 сл.		
Дифтерия	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,00	0	0,00	0	0,00	-1 сл.				
Коклюш	2943	2,01	2835	9,88	2750	11,14	5752	3,94	5551	19,78	5363	22,29	-48,9%	-2,0 раз	-2,0 раз		
Корь	240	0,16	153	0,53	149	0,60	78	0,05	39	0,14	39	0,16	3,1 раз	3,8 раз	3,7 раз		
Краснуха	5	0,00	1	0,00	1	0,00	40	0,03	5	0,02	4	0,02	-8,0 раз	-4 сл.	-3 сл.		
Паротит эпидемический	3515	2,40	1682	5,86	1187	4,81	415	0,28	224	0,80	164	0,68	8,5 раз	7,3 раз	7,1 раз		
Менингококковая инфекция	573	0,39	417	1,45	393	1,59	487	0,33	354	1,26	340	1,41	17,4%	15,3%	12,7%		
из нее генерализованные формы	477	0,33	366	1,28	346	1,40	405	0,28	307	1,09	294	1,22	17,5%	16,7%	14,7%		
Ветряная оспа	65650	448,44	620303	2162,37	604123	2447,03	605958	414,78	570234	2031,43	553046	2298,22	8,1%	6,4%	6,5%		
Туляремия	86	0,06	15	0,05	12	0,05	46	0,03	7	0,02	5	0,02	1,9 раз	8 сл.	7 сл.		
Сибирская язва	0	0,00	0	0,00	0	0,00	36	0,02	18	0,06	15	0,06	-36 сл.	-18 сл.	-15 сл.		
Бруцеллез, впервые выявленный	213	0,15	15	0,05	13	0,05	227	0,16	25	0,09	19	0,08	-6,4%	-41,3%	-6 сл.		

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—август 2017						Зарегистрировано заболеваний за январь—август 2016						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Вирусные лихорадки, передаваемые членистоногими и вирусные геморрагические лихорадки	3853	2,63	150	0,52	85	0,34	3026	2,07	121	0,43	79	0,33				27,1%	21,3%
из них: лихорадка Западного Нила	10	0,01	0	0,00	0	0,00	79	0,05	3	0,01	3	0,01	-7,9 раз	-3 сл.	-3 сл.		
Крымская геморрагическая лихорадка	77	0,05	4	0,01	0	0,00	160	0,11	4	0,01	4	0,02	-2,1 раз		-4 сл.		
геморрагическая лихорадка с почечным синдромом	3623	2,47	140	0,49	80	0,32	2676	1,83	107	0,38	66	0,27	35,1%	28,0%	18,1%		
Клещевой вирусный энцефалит	1612	1,10	194	0,68	165	0,67	1787	1,22	222	0,79	198	0,82	-10,0%	-14,5%	-18,8%		
Клещевой боррелиоз (болезнь Лайма)	4778	3,26	503	1,75	444	1,80	4421	3,03	502	1,79	449	1,87	7,8%	1 сл.	-5 сл.		
Псевдотуберкулез	430	0,29	253	0,88	235	0,95	581	0,40	389	1,39	360	1,50	-26,1%	-36,4%	-36,4%		
Лептоспироз	77	0,05	13	0,05	9	0,04	78	0,05	5	0,02	4	0,02	-1 сл.	8 сл.	5 сл.		
Бешенство	1	0,00	0	0,00	0	0,00	4	0,00	0	0,00	0	0,00	-3 сл.				
Укусы, ослюнения, оцарапывания животными	277991	189,88	90174	314,35	79980	323,96	282000	193,03	88475	315,19	78557	326,45	-1,6%	-0,3%	-0,8%		
Укусы клещами	462845	316,14	117609	409,98	104798	424,49	430332	294,57	106486	379,35	96028	399,05	7,3%	8,1%	6,4%		
Риккетсиозы	1691	1,16	490	1,71	469	1,90	1686	1,15	436	1,55	412	1,71	5 сл.	10,0%	11,0%		
из них: эпидемический сыпной тиф	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
болезнь Брилля	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
лихорадка Ку	138	0,09	8	0,03	5	0,02	83	0,06	16	0,06	15	0,06	1,7 раз	-8 сл.	-3,1 раз		
сибирский клещевой тиф	1371	0,94	434	1,51	421	1,71	1334	0,91	364	1,30	346	1,44	2,6%	16,7%	18,6%		
астраханская пятнистая лихорадка	104	0,07	26	0,09	24	0,10	171	0,12	38	0,14	35	0,15	-39,3%	-33,0%	-33,2%		
гранулоцитарный анаплазмоз человека	21	0,01	8	0,03	8	0,03	46	0,03	7	0,02	6	0,02	-2,2 раз	1 сл.	2 сл.		
моноцитарный эрлихиоз человека	16	0,01	9	0,03	9	0,04	19	0,01	7	0,02	6	0,02	-3 сл.	2 сл.	3 сл.		
Педикулез	117727	80,41	29692	103,51	27711	112,24	133192	91,17	31333	111,62	29457	122,41	-11,8%	-7,3%	-8,3%		
Туберкулез (впервые выявленный) активные формы	44107	30,13	2225	7,76	1645	6,66	48559	33,24	2371	8,45	1724	7,16	-9,4%	-8,2%	-7,0%		
из него туберкулез органов дыхания	42651	29,13	2071	7,22	1520	6,16	46875	32,09	2218	7,90	1592	6,62	-9,2%	-8,6%	-6,9%		
из него бациллярные формы	18590	12,70	149	0,52	67	0,27	20182	13,81	208	0,74	74	0,31	-8,1%	-29,9%	-7 сл.		
Сифилис (впервые выявленный)—все формы	18406	12,57	201	0,70	74	0,30	19861	13,59	264	0,94	85	0,35	-7,5%	-25,5%	-15,1%		
Гонококковая инфекция	10669	7,29	256	0,89	34	0,14	13846	9,48	361	1,29	52	0,22	-23,1%	-30,6%	-36,3%		
Болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и бессимптомный инфекционный статус, вызванный ВИЧ	58141	39,71	709	2,47	518	2,10	57672	39,48	684	2,44	498	2,07	0,6%	1,4%	1,4%		
Острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации	20593682	14066,15	14744713	51399,97	13728143	55606,47	19706473	13489,21	14060627	50090,21	13097384	54426,97	4,3%	2,6%	2,2%		
Грипп	50971	34,81	26879	93,70	24138	97,77	81764	55,97	29868	106,40	27682	115,03	-37,8%	-11,9%	-15,0%		
Пневмония (внебольничная)	374962	256,11	120600	420,41	114249	462,77	400535	274,17	122912	437,87	117235	487,18	-6,6%	-4,0%	-5,0%		
Малярия впервые выявленная	55	0,04	2	0,01	1	0,00	66	0,05	1	0,00	1	0,00	-16,8%	1 сл.			
Трихинеллез	22	0,02	11	0,04	9	0,04	117	0,08	14	0,05	11	0,05	-5,3 раз	-3 сл.	-2 сл.		
Поствакцинальные осложнения	165	0,11	149	0,52	148	0,60	123	0,08	115	0,41	112	0,47	33,9%	26,8%	28,8%		

* Используются материалы Роспотребнадзора РФ / http://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/statistic_details.php?ELEMENT_ID=9055

Лабораторная диагностика гепатита В

Фисенко Н.С., Шальнова Е.Е., Обрядина А.П.

Уникальные разработки сотрудников НПО «Диагностические системы» в области лабораторной диагностики гепатита В, представленные на международном уровне

ООО «НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород

Гепатит В (ГВ) является важнейшей медико-социальной проблемой общественного здравоохранения во всем мире, в том числе и в Российской Федерации.

По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) инфекцию, вызванную вирусом гепатита В (ВГВ), перенесло более половины населения Земли, при этом в мире насчитывается свыше 240 млн лиц страдающих хроническим гепатитом В (ХГВ), их число особенно велико в странах с низким и средним уровнем доходов. К основным осложнениям ХГВ относятся цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК). Эти осложнения развиваются у 20 – 30% лиц с ХГВ. Приблизительно 688 тыс. человек умирают ежегодно от инфекции, вызванной ВГВ, включая цирроз и рак печени в результате хронической инфекции. Большинство людей не подозревают о том, что они инфицированы ВГВ, и, следовательно, у них часто выявляются поздние стадии заболевания [1].

В Российской Федерации, благодаря широкому комплексу профилактических и противоэпидемических мероприятий, достигнуто выраженное снижение активности эпидемического процесса, проявляющегося острыми формами вирусных гепатитов В и С. Наряду с этим, как следствие широкого распространения этих форм в конце XX – начале XXI века, продолжают регистрироваться высокие уровни заболеваемости хроническими формами вирусных гепатитов (ХВГ) с тенденцией к снижению [2].

В Российской Федерации в 2016 году по сравнению с 2000 годом достигнуто снижение заболеваемости острым гепатитом В (ОГВ) в 47 раз, а показатель заболеваемости составил 0,94 случая на 100 тыс. населения (2015 г. – 1,12; 2014 г. – 1,32).

Социальная и экономическая значимость проблемы вирусных гепатитов в Российской Федерации преимущественно продолжает определяться высокой заболеваемостью хроническими формами. Всего в 2016 году зарегистрировано 68,1 тыс. случаев ХВГ (в 2015 г. – 71,8 тыс. случаев), снижение составило 5,2%. Остается проблема носительства вируса гепатита В среди населения, несмотря на снижение данного показателя в период с 2000 по 2016 год в 8,2 раза (в 2016 году показатель составил 11,69 на 100 тыс. населения против 95,7 в 2000 году). В 2016 году зарегистрировано 17 117 впервые выявленных случаев носительства ВГВ [2].

В последние десятилетия появились данные о длительном латентном течении хронической ВГВ-инфекции (так называемой оккультной инфекции), особенностями которой является отсутствие серологических маркеров

инфекции при наличии ДНК ВГВ в сыворотке крови и ткани печени больных. При длительном течении оккультной инфекции развиваются множественные мутации генетического материала ВГВ и гепатоцита, что в конечном итоге приводит к формированию ГЦК. Значимость оккультной ВГВ-инфекции заключается в риске передачи вируса при трансфузии крови и ее препаратов, трансплантации органов, парентеральным путем.

Высокие показатели заболеваемости, поражение лиц репродуктивного, наиболее трудоспособного возраста, разнообразие клинических форм, хронизация инфекционного процесса и развитие серьезных осложнений, приводящие к огромному экономическому и социальному ущербу, являются теми факторами, которые определяют широкий интерес исследователей к вопросам профилактики, диагностики (в том числе лабораторной) и терапии вирусных гепатитов с парентеральным механизмом инфицирования.

Современные научные исследования как зарубежных, так и отечественных авторов направлены на постоянное совершенствование существующих методов лабораторной диагностики, разработку новых высокочувствительных и специфичных тест-систем.

В настоящем обзоре представлены некоторые результаты собственных оригинальных научных исследований коллективов сотрудников ООО «НПО «Диагностические системы», а также и в соавторстве с зарубежными коллегами, прикладным результатом которых явились разработка, создание и внедрение в практику отечественного здравоохранения новых и усовершенствованных ИФА тест-систем. Результаты этих работ широко представлены в разные годы на международных съездах, симпозиумах, конгрессах и конференциях.

Так, коллективная работа специалистов, выполненная в 2000 г., была посвящена изучению влияния гетерогенности аминокислотной последовательности на антигенные свойства «диких» субтипов и мутантных форм поверхностного антигена ВГВ (HBsAg) и опубликована в материалах 10-го Международного симпозиума по вирусным гепатитам и болезням печени в США (Атланта, 2000) [3]. Авторы исследования путем экспрессирования соответствующих аминокислотных последовательностей HBsAg в клетках дрожжей *Hansenula polymorpha* сконструировали панель, содержащую серию плазмид HBsAg субтипов ayw1, adw2 и adw4, а также так называемые ускользающие мутантные формы HBsAg («vaccine escape» - мутанты) субтипов adw2- N126 (замена аспарагина (Asn) на треонин (Thr)

в 126 аминокислотной позиции) и adw2-R145 (замена аргинина (Arg) на глицин (Gly) в 145 аминокислотной позиции). Каждый из экспрессируемых рекомбинантных вариантов HBsAg был очищен и протестирован при помощи иммуноферментного анализа с 66 моноклональными антителами (МКА), специфичными для различных детерминант. Каждый субтип рекомбинантного HBsAg, кроме субтипа adw2-R145, подтверждали при помощи дополнительного исследования с пятью хорошо охарактеризованными детерминантами специфических МКА.

В ходе исследования было установлено, что 52 (78,8%) из 66 МКА реагировали с HBsAg субтипа ayw1, 42 МКА (63,6%) с HBsAg субтипа adw4 и 62 (93,9%) - с HBsAg субтипа adw2. Пятьдесят шесть МКА (84,8%) продемонстрировали иммунореактивность с мутантным вариантом HBsAg субтипа adw2-N126. Этот факт позволил авторам предположить, что мутация в 126 аминокислотной позиции не оказывает большого влияния на антигенные свойства HBsAg субтипа adw2. Однако с мутантным вариантом HBsAg субтипа adw2-R145 прореагировали только 26 (39,4%) МКА. Это наблюдение позволило предположить, что мутация R145 оказывает существенное влияние на состав антигенных эпитопов HBsAg субтипа adw2. Двадцать (30,3%) из 66 МКА прореагировали со всеми пятью вариантами HBsAg. На основании полученных данных авторы сделали вывод о том, что, несмотря на гетерогенность первичной структуры, все варианты HBsAg, использованные в данном исследовании, имеют общий эпитоп (ы). Восемнадцать (27,3%) МКА продемонстрировали иммунореактивность с четырьмя вариантами HBsAg, кроме мутантного варианта HBsAg субтипа adw2-R145.

Таким образом, мутация с заменой Arg на Gly существенно снижает количество общих антигенных эпитопов HBsAg субтипа adw2-R145 и «дикого» субтипа adw2. Результаты данного исследования показали, что гетерогенность аминокислотной последовательности HBsAg может существенно влиять на его антигенные свойства. Несмотря на это, подчеркивают исследователи, мутации различных «vaccine escape» мутантов HBsAg могут иметь разную степень выраженности.

В другом аналогичном исследовании (2004 г.), авторы оценивали влияние гетерогенности аминокислотной последовательности «диких» субтипов и ускользящих мутантных форм HBsAg на антигенные свойства HBsAg [4]. При проведении исследования варианты рекомбинантных HBsAg «диких» субтипов - adw2, adw4, ayw1, ayw2, adr и «vaccine escape mutants» («ускользающих») мутантных субтипов - adw2 T126S, Q129R, Q129L, T143K, Q145R и ayw1 Q145A были синтезированы, очищены и протестированы при помощи ИФА на панели из 43 коммерческих МКА, специфичных для различных детерминант HBsAg. По результатам работы, концентрация протестированных рекомбинантных белков составила 1 нг/мл. Все рекомбинантные белки HBsAg оказались иммунореактивными в различной степени. Среди рекомбинантных HBsAg «диких» субтипов, высокую реактивность продемонстрировал антиген субтипа adw2. С этим белком прореагировали 90,6% МКА.

Средняя величина соотношения ОП образца/ОП критической (КП) составила 43,7. Рекомбинантный HBsAg субтипа adw4

оказался наименее иммунореактивным (прореагировал с 55,8% МКА, среднее значение КП=3,7). Точечные мутации вызывают изменения, оказывающие влияние на антигенные свойства HBsAg. Среди «vaccine escape» мутантов HBsAg доля реагирующих МКА варьировала от 88,4 до 34,8%. Результаты данного исследования подтвердили вывод, полученный в более раннем исследовании о том, что гетерогенность аминокислотной последовательности HBsAg оказывает существенное влияние его антигенные свойства. И сделали важное заключение, что разработка диагностических тест-систем требует тщательного подбора МКА, используемых в качестве реагентов. Точечные мутации рекомбинантных HBsAg, особенно «vaccine escape» мутанты HBsAg, по мнению исследователей, могут быть использованы для оценки диагностической эффективности коммерческих и так называемых «домашних» ИФА тест-систем, предназначенных для выявления HBsAg.

Значительное количество исследовательских работ сотрудников НПО «Диагностические системы» посвящено разработке, созданию и промышленному выпуску ИФА тест-систем с повышенной чувствительностью, предназначенной для детекции HBsAg.

HBsAg является наиболее часто используемым маркером для диагностики инфекции, вызываемой ВГВ. С момента появления первых коммерческих тест-систем постоянно проводятся исследования по улучшению чувствительности наборов для детекции HBsAg многими зарубежными и отечественными специалистами. Для современных ИФА тест-систем, предназначенных для выявления HBsAg, регламентирована аналитическая чувствительность 0,1 нг/мл. Однако, несмотря на высокую эффективность скрининговых исследований, продолжают регистрироваться случаи заражения ВГВ-инфекцией при трансфузиях крови и ее компонентов. Существует высокий остаточный риск передачи ВГВ при гемотрансфузиях, что не определяется большинством современных коммерческих ИФА тест-систем, так как концентрация HBsAg в сыворотке или плазме крови может быть ниже предела чувствительности этих тест-систем.

Специалисты НПО «Диагностические системы» разработали и провели оценку ИФА тест-системы для выявления HBsAg с 10-кратно повышенной чувствительностью (0,01 нг/мл) и представили результаты исследования на 12-ом международном симпозиуме по вирусным гепатитам и болезням печени во Франции (Париж, 2006).

В данной работе описаны результаты оценки чувствительности новой разработанной ИФА тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01», в основе теста — принцип амплификации сигнала при взаимодействии биотина со стрептавидином, использовали одностадийный вариант ИФА [5]. Оценка чувствительности данной тест-системы авторы проводили с использованием серийных разведений, откалиброванных по 2-ому Международному стандарту на наличие HBsAg (NIBSC 00/588), эффективность выявления HBsAg оценивали при тестировании образцов сывороток крови панелей «Sensitivity Panel PHA807» (Boston Biomedica Inc.; BBI), West Bridgewater, MA, США), «Low Titer Performance Panel» (BBI PHA106), «Mixed Titer Performance» (BBI PHA205) и двух

сероконверсионных панелей (ВВ1 PHM933 и ВВ1 PHM934). Наряду с этим исследовали образцы сывороток крови ВИЧ-инфицированных пациентов ($n=494$) и образцы сывороток крови, содержащие рекомбинантные HBsAg-мутанты ($n=13$). Для оценки специфичности нового теста исследовали образцы сывороток крови бессимптомных доноров ($n=3348$), беременных женщин ($n=381$), пациентов с наличием других инфекций ($n=392$) и пациентов с наличием неинфекционных заболеваний ($n=95$).

По результатам работы аналитическая чувствительность тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» составила 0,01 нг/мл. Данная тест-система продемонстрировала одинаковую чувствительность при исследовании образцов сывороток крови, содержащих различные субтипы HBsAg. Все образцы сывороток крови сероконверсионных панелей показали более высокий уровень cutoff, чем другие образцы. Результаты исследования показали, что тест-система «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» позволяет диагностировать ОГВ раньше, чем альтернативные тесты. При исследовании ВИЧ-положительных образцов ($n=494$) HBsAg был обнаружен в 82 случаях. В 16 из них HBsAg обнаружен в концентрации менее 0,05 нг/мл и не был детектирован при помощи альтернативных тест-систем. В девяти образцах (из этих 16) другие маркеры ВГВ-инфекции не выявлены. Шесть из 3348 образцов сывороток крови бессимптомных доноров, показавшие негативный результат на наличие HBsAg в альтернативных тестах, оказались HBsAg-положительными в новом тесте. Кроме того, новая тест-система позволила выявить мутантные формы рекомбинантного HBsAg в гораздо меньшей концентрации. Общая специфичность разработанной тест-системы при исследовании разных когорт образцов сывороток крови составила 99,6%.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой диагностической эффективности набора реагентов «ДС-ИФА-HBsAg-0,01». Применение таких тест-систем с повышенной чувствительностью рекомендовано для скрининговых исследований донорской крови, что позволит значительно уменьшить риск посттрансфузионного инфицирования ВГВ [5].

В дальнейшем сотрудники НПО «Диагностические системы» изучали диагностические возможности тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» и оценивали ее эффективность для различных лабораторных и клинических ситуаций.

Одно из исследований (2007 г.) было посвящено оценке эффективности вышеуказанной тест-системы для детекции HBsAg сокращения периода серологического окна [6]. Эффективность выявления HBsAg при помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» авторы оценивали при тестировании образцов сывороток 10 коммерческих сероконверсионных панелей PHM928, PHM932, PHM933, PHM934, PHM935A(M), PHM935B (Boston Biomedica Inc.) и HBV6277, HBV6278, HBV6279, HBV6281 (ZeptoMetrix Corp.) и сравнивали с результатами исследования с использованием других высокочувствительных коммерческих тест-систем, предназначенных для выявления HBsAg (в соответствии с данными, приводимыми в инструкциях к тест-системам и в паспортах к панелям). Конечный результат рассчитывали путем суммирования общего количества положительных образцов во всех сероконверсионных панелях, выявленных

каждой тест-системой. Тест-систему, определившую наибольшее количество HBsAg-положительных образцов, признавали наиболее чувствительной. Определяли суммарное время (в днях) с момента забора крови до первого положительного образца с подсчетом средней величины и медианы задержки детекции HBsAg, поскольку медиана задержки детекции HBsAg является наиболее значимым показателем чувствительности теста на сероконверсионных панелях.

По результатам проведенного исследования тест-система «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» продемонстрировала наилучшую чувствительность, выявив 93 HBsAg-положительных образца из 108 сероконверсионных образцов. Один из альтернативных тестов выявил HBsAg в 70 из 108 образцов, другой тест – в 61 из 108. Время первой детекции HBsAg (с момента первого забора крови) варьировало от 0 до 50 дней (средняя величина 18,9 дней и медиана - 19,0 дней) для первого теста сравнения и от 3 до 61 дня (средняя величина 22,6 дней и медиана - 22,0 дня) - для второго теста. Для тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» время первой детекции HBsAg составило от 0 до 36 дней (средняя - 9,6 дней и медиана - 4,0 дня). Было показано, что в образцах сывороток крови сероконверсионных панелей PHM935A(M) и PHM935B, полученных от одного донора в течение 9 месяцев сероконверсии, тест-система «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» выявила HBsAg раньше и в большем количестве образцов, чем альтернативные тесты. Таким образом, было зарегистрировано увеличение позитивного по HBsAg периода на 28 или 45 дней в зависимости от вариантов тест-систем. При помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» HBsAg детектирован в образцах сывороток сероконверсионных панелей HBV6277 и HBV6279 раньше, чем произошло первое выявление вирусной ДНК (100 копий/мл). При использовании «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» для оценки образцов сывороток сероконверсионных панелей PHM933, PHM934, PHM935A (M) и HBV6281, момент детекции HBsAg совпал с моментом первого обнаружения ДНК ВГВ (100-4000 копий/мл). На основании полученных данных исследователи пришли к заключению о том, что использование высокочувствительной тест-системы позволяет определять наличие HBsAg одновременно с ДНК ВГВ.

Мутации, коинфекции, начало или завершение инфекционного процесса могут вызывать снижение уровня HBsAg в сыворотке крови, который не выявляется большинством коммерческих тест-систем с регламентированной чувствительностью 0,05 - 0,1 МЕ/мл.

В связи с этим сотрудники компании «Диагностические системы» в 2009 г. провели исследование по определению серологического профиля образцов сывороток крови HBsAg-негативных по результатам исследований с использованием коммерческих тест-систем с регламентированной чувствительностью [7].

В своей работе авторы исследовали образцы сывороток крови ($n=63$) из разных когорт (образцы сывороток крови первичных бессимптомных доноров крови, клинические образцы сывороток крови, образцы сывороток крови от беременных женщин и от пациентов с наличием инфекций, вызванных различными бактериями и вирусами), в которых концентрация HBsAg составляла не менее 0,05 МЕ/мл. Кроме того исследовали коллекции образцов сывороток

не содержащих анти-НВс и содержащих анти-НВс ($n=72$) антитела и образцов анти-ВИЧ-позитивных/НВsAg-негативных сывороток ($n=172$). Позитивные результаты на НВsAg подтверждали в тесте нейтрализации.

Результаты проведенного исследования показали, что все 63 образца сывороток крови, негативные по НВsAg (по результатам исследования в тест-системах с чувствительностью 0,05-0,1 МЕ/мл), оказались НВsAg-позитивными в тест-системе с аналитической чувствительностью 0,01 МЕ/мл. В 21 образце (33,3%) детектированы анти-НВс. Серологический профиль 7 образцов (позитивных по анти-НВс и анти-НВе) оказался совместим со статусом носительства ВГВ. В двух случаях определен серологический профиль острой ВГВ-инфекции (наличие анти-НВс и анти-НВс-IgM), серологический профиль маркеров в одном образце был совместим с острой ВГВ-инфекцией и активной вирусной репликацией (наличие анти-НВс, анти-НВс-IgM антител и НВеAg). В двух образцах сывороток определен серологический профиль обострения хронической ВГВ-инфекции (наличие анти-НВс, анти-НВс-IgM и анти-НВе антител). В двенадцати из 63 образцов обнаружено одновременное присутствие НВsAg и анти-НВsAg антител. Пять из них оказались анти-НВс-негативными. В семи образцах детектированы анти-НВс- и анти-НВс, в двух из них — анти-НВе антитела. Тридцать один из 63 образцов сывороток крови исследовали при помощи ПЦР. В девяти образцах из 31 обнаружена ДНК ВГВ. Из 72 образцов позитивных только по анти-НВс в 12 (16,7%) образцах были неоднократно детектированы НВsAg при помощи ИФА тест-системы с чувствительностью 0,01 МЕ/мл. Позитивные результаты были подтверждены в тесте нейтрализации. Из них в 33,3% были детектированы анти-НВс-IgM. Среди образцов с наличием антител к ВИЧ ($n=172$) в 14 образцах неоднократно был детектирован НВsAg при помощи ИФА тест-системы с чувствительностью 0,01 МЕ/мл. В двенадцати из этих 14 образцов обнаружена ДНК ВГВ. В одном из негативных по ДНК ВГВ образцов детектированы анти-НВс, анти-НВс-IgM и анти-НВе, в другом — только анти-НВс.

Анализируя результаты собственного исследования, авторы пришли к выводу, что использование современных коммерческих ИФА тест-систем для детекции НВsAg с повышенной чувствительностью, позволяет более эффективно выявлять НВsAg в образцах сывороток крови, определенных как негативные при первоначальном исследовании альтернативными тест-системами. Применение ИФА тест-систем с повышенной чувствительностью позволит повысить качество скрининга донорской крови и снизить риск развития посттрансфузионного ГВ.

Еще одно более крупное исследование было проведено тем же коллективом авторов несколькими годами позднее [8]. Работа представлена на 21-м международном конгрессе по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям (Италия, Милан, 2011). В данной работе анализировали большее, чем в предыдущем исследовании, количество образцов сывороток крови из различных когорт ($n=307$) с целью выявления НВsAg, ранее не детектированного современными коммерческими тест-системами с чувствительностью 0,05-0,1 МЕ/мл. Наличие НВsAg в этих образцах определяли при помощи тест-системы «ДС-ИФА-НВsAg-0,01»,

положительные результаты подтверждали в тесте нейтрализации. Во всех образцах, содержащих НВsAg, определяли ВГВ-специфические серологические маркеры. Также определяли вирусную ДНК.

При исследовании образцов сывороток крови, содержащих антитела к ВИЧ ($n=172$), с использованием ИФА тест-системы с чувствительностью 0,01 МЕ/мл НВsAg был обнаружен в 14 образцах. Из этих 14 образцов сывороток крови в 12 образцах детектирована ДНК ВГВ. В одном ДНК ВГВ-негативном образце выявлены анти-НВс, анти-НВс-IgM и анти-НВе, в другом — только анти-НВс антитела. Из 72 образцов, содержащих только анти-НВс, в 12 образцах был детектирован НВsAg при помощи ИФА тест-системы с чувствительностью 0,01 МЕ/мл. Из 12 образцов сывороток крови в 4 образцах определены анти-НВс-IgM.

В 63 образцах сывороток крови из разных когорт (в основном бессимптомных доноров крови (случайная выборка), клинических образцов, беременных женщин и пациентов с наличием инфекций, вызванных различными бактериями и вирусами), ранее считавшихся НВsAg-негативными, был детектирован НВsAg при помощи тест-системы «ДС-ИФА-НВsAg-0,01». В 21 образце сывороток крови были детектированы анти-НВс. Серологический профиль 7 образцов (содержащих анти-НВс и анти-НВе, анти-НВс-IgM и не содержащих анти-НВс) соответствовал носительству ВГВ-инфекции (корреляция с детекцией ДНК ВГВ). В двух образцах определен серологический профиль острой ВГВ-инфекции (наличие НВс и анти-НВс-IgM, отсутствие анти-НВе, НВеAg и анти-НВс). В одном образце серологический профиль маркеров острой ВГВ-инфекции сочетался с маркерами активной вирусной репликации (наличие анти-НВс, анти-НВс-IgM и НВеAg, отсутствие анти-НВе и анти-НВс). В двух образцах определен серологический профиль обострения хронической ВГВ-инфекции (наличие анти-НВс, анти-НВс-IgM и анти-НВе, отсутствие НВеAg и анти-НВс). В девяти из 31 образцов сывороток крови, исследованных на ДНК ВГВ в тест-системах с чувствительностью НВsAg ниже 0,05 МЕ/мл, была детектирована вирусная ДНК.

По результатам выполненных работ исследователи подтвердили свое заключение о том, что повышение чувствительности ИФА тест-систем для детекции НВsAg позволяет выявить НВsAg в образцах сывороток крови, определенных как отрицательные при первоначальном исследовании, и тем самым, уменьшить риск посттрансфузионного инфицирования ВГВ и улучшить качество скрининга донорской крови.

Ряд работ этих же авторов посвящен сравнительной оценке диагностической эффективности тест-системы «ДС-ИФА-НВsAg-0,01».

В одной из них авторы, оценивая преимущества высокочувствительной тест-системы «ДС-ИФА-НВsAg-0,01», сравнивали время начальной детекции НВsAg с использованием данной тест-системы и время детекции ДНК ВГВ при помощи молекулярно-генетических методов [9]. Корреляцию между временем начальной детекции НВsAg и ДНК ВГВ изучали с использованием образцов сывороток крови сероконверсионных панелей. Были использованы 28 коммерческих панелей РНМ-911, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931,

932, 933, 934, 935A(M), 935B (Boston Biomedica Inc.) и HBV-6271, 6273, 6275, 6277, 6278, 6279, 6281, 11001, 11002, 11003, 11006, 11008, 11011, 11012, 11017 (ZeptoMetrix corp.). Конечный результат рассчитывали путем суммирования общего количества реактивных образцов во всех панелях, детектированных при помощи каждой из тест-систем, используемых в данном исследовании. Рассчитывали среднее количество дней задержки в детекции HBsAg и ДНК ВГВ.

В ходе исследования при помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» HBsAg выявлен в 203 образцах сывороток крови из 283 образцов сероконверсионных панелей. ДНК ВГВ была детектирована только в 181 образце из 283 образцов сероконверсионных панелей. Время начальной детекции HBsAg и ДНК ВГВ варьировалось в пределах 0-133 дней, среднее время начала детекции HBsAg составило 21,85 дней, а вирусной ДНК - 24,48 дней. При помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» HBsAg был детектирован в образцах PNM- (926, 931, 933), HBV- (6277, 6279, 11001, 11012, 11017) панелей раньше, чем в образцах панелей PNM925, HBV11002, PNM932, HBV6275 на два, два, четыре и пять дней, соответственно, опережая время первой детекции ДНК ВГВ (100-400 копий/мл). При использовании тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» для оценки образцов таких панелей PNM (927, 928, 929, 930, 934, 935A(M)), ВГВ (6271, 6273, 6281, 11003, 11006, 11008, 11011), время первоначальной детекции HBsAg и ДНК ВГВ совпало. Авторами был сделан вывод, что использование высокочувствительного теста позволяет выявлять HBsAg одновременно с вирусной ДНК или даже раньше. Диагностическая эффективность тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» сравнима с NAT тест-системами, основанными на молекулярно-генетических методах, что позволяет рассматривать ее в качестве возможной альтернативы другим методам и использовать для скрининга донорской крови.

В другом исследовании (2012 г.) авторы оценивали диагностическую эффективность тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» ($C\epsilon_{0,01}$) с повышенной чувствительностью (0,01 МЕ/мл, аттестованной по 2-ому Международному стандарту на HBsAg, NIBSC код: 00/588), предназначенной для выявления и подтверждения выявления HBsAg в сравнении с альтернативными тестами с более низким уровнем чувствительности [10]. В работе авторы использовали различные образцы сывороток крови: образцы, содержащие генотипы ВГВ/субтипы HBsAg ($n=16$) (Институт Пауля-Эрлиха, Германия), образцы, содержащие мутантные варианты HBsAg субтипов ayw1 и adw2 ($n=13$) (НПО «Диагностические системы», Россия) и образцы сывороток сероконверсионных панелей ($n=28$) (Boston Biomedica Inc. and ZeptoMetrix Corp.). Подсчитывали общее число реактивных образцов во всех сероконверсионных панелях, определяли суммарное время с момента начального забора крови до появления первого позитивного образца (по HBsAg и ДНК ВГВ) с подсчетом средней величины.

В ходе исследования все 16 сильно разведенных образцов, содержащих генотипы ВГВ/субтипы HBsAg (A/adw2, B/ayw1, B/adw2, C/adr, D/ayw2, D/ayw3, E/ayw4, F/adw4,

G/adw2), с наличием HBsAg в концентрации 0,031 МЕ/мл или 0,010 нг/мл, показали положительный результат в тест-системе «ДС-ИФА-HBsAg-0,01». Результаты исследования продемонстрировали способность тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» с повышенной чувствительностью выявлять мутантные формы HBsAg по сравнению с другими альтернативными тест-системами, имеющими более низкий уровень чувствительности. При исследовании 283 сероконверсионных образцов сывороток крови при помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» с повышенной чувствительностью и других альтернативных ИФА тест-систем выявлено 203 и 152 HBsAg-позитивных образца, соответственно. В 181 образце сывороток крови обнаружена вирусная ДНК. Время первой детекции HBsAg (от момента первого забора крови) при помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» и первой детекции ДНК ВГВ варьировало в пределах 0 -133 суток и составило в среднем 21,85 дней и 24,48 дней, соответственно. Время первой детекции HBsAg с использованием других альтернативных ИФА тест-систем варьировало в пределах 0-142 дней, составив в среднем 28,52 дней. При помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» HBsAg детектирован в образцах сывороток крови 8 панелей на 1 день раньше, а в образцах 4 панелей на 2-5 дней раньше, опережая время первой детекции ДНК ВГВ (100-400 копий/мл). При исследовании образцов сывороток крови 13 панелей время первой детекции HBsAg при помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» совпало со временем первой детекции вирусной ДНК.

Результаты данного исследования продемонстрировали, что использование высокочувствительной тест-системы способствует более эффективному выявлению различных субтипов и мутантов HBsAg и, тем самым, улучшению диагностики ВГВ-инфекции на ранней стадии. Тест-система «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» позволяет сократить период диагностического (серологического) окна на 2,63 дней по сравнению со временем детекции вирусной ДНК и на 6,67 дней по сравнению со временем детекции в альтернативных ИФА-тест-системах.

В более поздних работах (2013-2014 гг.) авторы изучали способность тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» выявлять occultную ВГВ-инфекцию у пациентов инфицированных и другими вирусами (ВИЧ, ВГС) [11,12]. Необходимость проведения этих исследований была вызвана тем, что при сочетанной инфекции, вызываемой ВГВ и ВИЧ (коинфекции ВГВ/ВИЧ), из-за подавления репликации ВГВ возможно снижение выявляемости HBsAg в сыворотке крови человека при помощи ИФА тест-систем с чувствительностью 0,05-0,1 МЕ/мл.

С использованием ИФА тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» авторы исследовали образцы сывороток крови, содержащие антитела к ВИЧ ($n=1007$), для выявления HBsAg. Наличие HBsAg подтверждали в тесте нейтрализации. Сравнительную оценку HBsAg-позитивных образцов проводили по результатам уровня чувствительности. Все HBsAg-позитивные образцы исследовали на специфические серологические маркеры ВГВ-инфекции. Среди 1007 образцов сывороток крови, содержащих антитела к ВИЧ, 63 образца оказались также реактивными в тест-системе «ДС-ИФА-HBsAg-0,01». При помощи альтернативных

ИФА тест-систем с чувствительностью 0,05-0,1 МЕ/мл HBsAg был детектирован только в 41 образце сывороток крови.

Из 41 образца, оказавшегося HBsAg-позитивным в обоих тестах, в 19 образцах определен серологический профиль хронической ВГВ-инфекции (анти-HBc, анти-HBe). Серологический профиль 6 образцов соответствовал обострению хронической ВГВ-инфекции (анти-HBc, анти-HBc IgM, анти-HBe). В трех образцах выявлены серологические маркеры хронической ВГВ-инфекции с активной вирусной репликацией (анти-HBc, анти-HBe, HBeAg). Кроме того, в 6 образцах сывороток крови наряду с HBsAg определены анти-HBc, а в 9 образцах - только HBsAg. Из двадцати двух HBsAg-позитивных образцов сывороток крови, в которых при помощи высокочувствительной тест-системы был детектирован только HBsAg, в 11 образцах сывороток были обнаружены также и анти-HBc антитела, а в 8 из них - еще и анти-HBe антитела. В остальных 11 образцах был детектирован только HBsAg в низких концентрациях, другие серологические маркеры ВГВ-инфекции не обнаружены [11].

Результаты данного исследования показали, что ИФА тест-система с повышенной чувствительностью позволяет эффективно выявлять HBsAg в образцах сывороток крови пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГВ. Своевременная диагностика оккультного ГВ у таких пациентов позволит назначать соответствующую специфическую терапию.

В 2014 году исследовательским коллективом компании проведено изучение диагностических возможностей рассматриваемой ИФА тест-системы с повышенной чувствительностью для детекции низких концентраций HBsAg в образцах сывороток крови с наличием маркеров инфекций, вызванных ВГВ, ВГС или ВИЧ. Цель данной работы состояла в определении серологического профиля маркеров инфекции, вызванной ВГВ, при исследовании образцов плазм крови доноров, отведенных от донаций из-за выявленных маркеров ВГВ- и ВГС-инфекций, а также образцов сывороток крови, полученных от пациентов с коинфекцией ВГВ/ВИЧ [12].

Авторы анализировали коллекцию образцов плазм доноров ($n=6312$), отведенных от донаций из-за обнаружения маркеров ВГВ-и ВГС-инфекций, собранную на станции переливания крови в период с 2006-2013 годы. Все образцы плазм исследовали на HBsAg при помощи ИФА тест-системы с чувствительностью 0,05-0,1 МЕ/мл и тест-системы с повышенной чувствительностью 0,01 МЕ/мл - «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» (С₀₄₈₃), проводили сравнительную оценку результатов исследования. Также при помощи тест-системы «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» исследовали образцы, содержащие антитела к ВИЧ ($n=1007$). Сравнивали результаты исследования ВИЧ/HBsAg-позитивных образцов, проведенного при помощи альтернативной ИФА тест-системы с более низким уровнем чувствительности. Наличие HBsAg подтверждали в тесте нейтрализации. Кроме того, все HBsAg-позитивные образцы исследовали на специфические серологические маркеры ВГВ-инфекции.

По результатам проведенного исследования авторами было выявлено, что среди 6312 образцов плазм 57 HBsAg-негативных образцов по результатам первоначального исследования в ИФА тест-системах

с чувствительностью 0,05-0,1 МЕ/мл, оказались HBsAg-позитивными в ИФА тест-системе с чувствительностью 0,01 МЕ/мл. Поэтому использование ИФА тест-системы с повышенной чувствительностью позволило дополнительно выявить 0,9% образцов с низкой концентрацией HBsAg. Из них в 30 образцах плазм крови обнаружен только HBsAg, другие маркеры ВГВ-инфекции не детектированы. В 20 образцах были детектированы анти-HBc антитела. Серологический профиль 10 образцов был совместим со статусом носительства ВГВ-инфекции (анти-HBc, анти-HBe). В 6 образцах определен серологический профиль острой ВГВ-инфекции (анти-HBc, анти-HBc-IgM). В одном случае профиль серологических маркеров соответствовал острой ВГВ-инфекции с активной вирусной репликацией (анти-HBc, анти-HBc-IgM, HBeAg). Из 55 образцов плазм в 10 образцах обнаружены анти-HBs антитела. В пяти образцах выявлены анти-HBc и анти-HBs, в четырех из них были обнаружены еще и анти-HBe антитела. Среди 55 образцов, содержащих HBsAg в низких концентрациях, не детектируемых большинством альтернативных ИФА тест-систем (с чувствительностью 0,05-0,1 МЕ/мл) в 14 образцах были обнаружены маркеры ВГС-инфекции. Исследователями было высказано предположение, что коинфекция ВГВ/ ВГС подавляет секрецию HBsAg и является причиной снижения уровня его концентрации. Среди 1007 анти-ВИЧ позитивных образцов 63 образца оказались реактивными в тест-системе «ДС-ИФА-HBsAg-0,01». При помощи современных коммерческих тест-систем с регламентированной чувствительностью 0,05-0,1 МЕ/мл HBsAg был детектирован только в 41 образце плазм крови. Из 22 образцов плазм крови, в которых был детектирован только HBsAg при помощи высокочувствительного теста в 11 образцах наряду с HBsAg были также обнаружены анти-HBc антитела, а в 8 из них дополнительно детектированы анти-HBe антитела. В остальных 11 образцах был детектирован только HBsAg в низких концентрациях и не обнаружено каких-либо других серологических маркеров ВГВ.

В заключение авторы сформулировали вывод, что использование тест-систем с повышенной чувствительностью для выявления HBsAg позволит более эффективно выявлять HBsAg в образцах, первоначально показавших отрицательный результат при исследовании коммерческими ИФА тест-системами с более низким уровнем чувствительности, и детектировать HBsAg в образцах сывороток крови пациентов с наличием ВГВ/ВИЧ- и ВГВ/ВГС коинфекций. Авторы подчеркивают значимость диагностики оккультной ВГВ-инфекции у пациентов с наличием данных коинфекций для своевременного назначения обоснованной и адекватной терапии.

Инфицирование ВГВ является одной из основных причин развития острой и хронической форм гепатита и осложнений, сопутствующих данному заболеванию. ВГВ среди всех ныне идентифицированных ДНК-содержащих вирусов обладает наибольшей скоростью мутации. Это обусловлено уникальным жизненным циклом данного вируса, так как работа обратной транскриптазы сопровождается большим количеством ошибок. Также следует принимать во внимание очень высокий уровень суточной продукции вирионов [Lazarevic I. et al., 2014]. Использование

высокочувствительного теста для детекции HBsAg позволяет сократить период «серологического» окна и повысить качество диагностики ГВ. Выявление наиболее распространенных мутаций HBsAg также является основным критерием при оценке качества теста.

Совсем недавно (2017 г.) специалисты ООО «НПО «Диагностические системы» совместно с коллегами из Германии (Берлин) провели исследование по оценке аналитических характеристик новой высокочувствительной тест-системы abia HBsAg, предназначенной для выявления HBsAg [13]. Авторы работы оценивали новую тест-систему abia HBsAg, основанную на «сэндвич» – варианте твердофазного ИФА в сравнении с хорошо зарекомендовавшим себя тестом сравнения.

Проводили оценку теста abia HBsAg, кат.#ДК.013.01.3 (производства AB Diagnostic Systems GmbH, Германия). В качестве референтного теста (теста сравнения) использовали тест-систему Murex HBsAg Version 3, кат. #9F80-05 (производства Murex Biotech Limited, Великобритания). В ходе исследования были протестированы 38 сероконверсионных панелей (33 панели производства ZepetoMetrix Corporation ((HBV 6271, 6272, 6275, 6276, 6285, 6288, 6289, 6293, 6290, 6292, 9073, 11000, 11002, 9074, 11006, 11007, 11011, 11008, 11009, 11010, 11012, 11016, 11013, 11028, 11017, 11024, 11026, 11027, 11029, 11031, 11052, 11056, 11069), а также 5 панелей производства BBI Diagnostics (PHM 906, 918, 921, 924, 936)). Аналитическую чувствительность теста определяли на основании оценки препарата 3-его Международного стандарта ВОЗ для HBsAg (NIBSC Code: 12/226), стандарта для HBsAg субтипа ad, 100 Е/мл (институт Пауля Эрлиха, Германия) и рабочего стандарта HBsAg

субтипа ау, 50 000 Е/мл (институт Пауля Эрлиха) Для подтверждения выявления мутантных форм при помощи теста abia HBsAg использовали панель образцов, содержащих нативные мутанты HBsAg, кат. #DH1200, (производства Trina Bioreactives AG, Германия). Для определения специфичности теста abia HBsAg исследовали 5008 образцов сывороток крови случайно отобранных доноров (предоставлены службой доноров крови Немецкого отделения Красного Креста, Франкфурт-на-Майне, Германия).

Аналитическая чувствительность, определенная при помощи 3-его Международного стандарта ВОЗ для HBsAg (NIBSC Code: 12/226) составила 0,02 МЕ/мл. Данный параметр был рассчитан как предел обнаружения (лимит детекции) с использованием модели пробит-регрессии в соответствии с процедурой, описанной в CLSI EP17-A2. Тест abia HBsAg выявляет оба субтипа (ad и ау) HBsAg. Минимальная концентрация HBsAg, детектируемая при помощи теста abia HBsAg ($A=0,120$), составила 0,008 Е/мл в соответствии со стандартом HBsAg субтипа ad, 100 Е/мл (институт Пауля Эрлиха,) и 0,004 Е/мл в соответствии с рабочим стандартом на HBsAg субтипа ау (институт Пауля Эрлиха).

Таким образом, тест abia HBsAg продемонстрировал сопоставимую способность детектировать HBsAg ad и ау субтипов. При помощи однофакторного дисперсионного анализа оценивали показатели параллельности и линейности между результатами тестирования серии последовательных разведений двух стандартов, содержащих разные субтипы HBsAg (стандарта, содержащего HBsAg субтипа ad и рабочего стандарта, содержащего HBsAg субтипа ау).

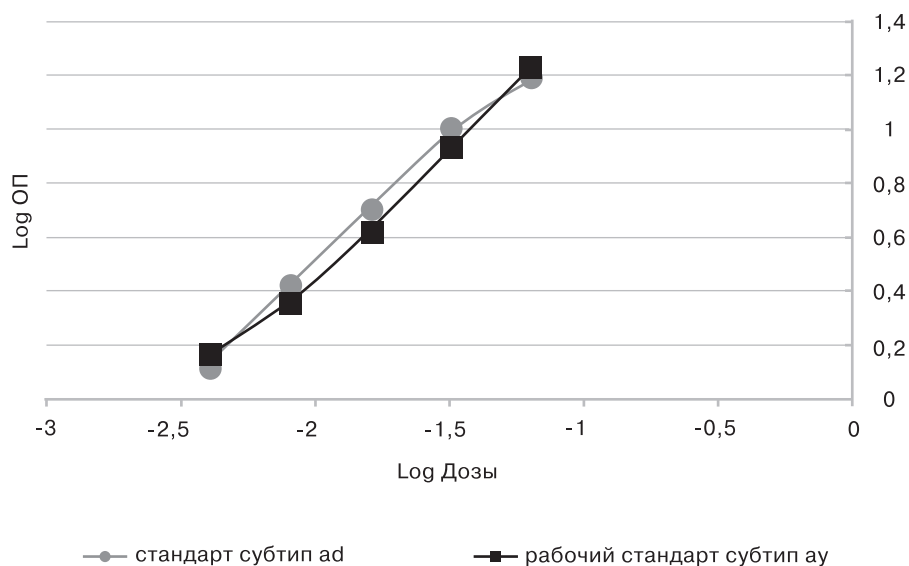


Рис 1. Сравнение параллелизма и линейности титрования стандарта HBsAg субтипа ad и рабочего стандарта HBsAg субтипа ау.

Результаты дисперсионного анализа

Источник вариации	Степень	Сумма	Средний	F-теор.	F-экспер.	Вывод
Измерения (дозы)	9	5,8682	0,6520	2,21	1576,7	значимо
Препараты	1	0,0095	0,0095	4,17	23,0	значимо
Линейная регрессия	1	5,8212	5,8212	4,17	14076,9	значимо
Параллелизм	1	0,0001	0,0001	4,17	0,2	Да
Линейность	6	0,0375	0,0062	2,42	15,1	Нет
Остаточная ошибка	30	0,0124	0,0004			
Всего	39	5,8806				

По результатам оценки сероконверсионных панелей проведен анализ диагностической чувствительности теста abia HBsAg и теста Murex HBsAg Version 3. В данном

исследовании при помощи теста abia HBsAg было выявлено больше HBsAg-положительных образцов (191 из 477), чем при помощи теста Murex HBsAg Version 3 (171 из 477).

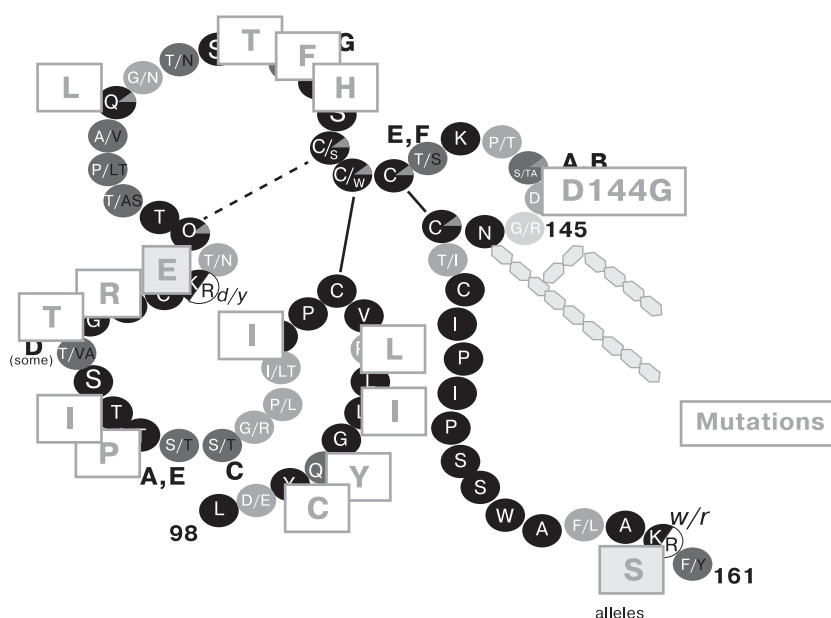


Рис.2. Модель «а» детерминанты HBsAg с возможными вариантами мутаций.

Также в тест-системе abia HBsAg была оценена панель компании Trina ($n=48$), состоящая из нативных мутантов ВГВ. Тестируемая панель включала образцы с разными генотипами, субтипами и серотипами ВГВ: A1 (ayw1), A2 (adw2), A3 (ayw1), B4 (ayw1), C (adr), D1 (ayw1 and ayw2), D2 (ayw2 and ayw3), D3 (ayw3), D4 (ayw2), D7 (ayw2), E (ayw3 and ayw4). В состав панели вошли образцы сывороток крови с подтвержденным наличием разнообразных мутаций HBsAg, таких как: 1) аминокислотные замены в позициях 116, 118, 120, 123, 126, 124, 129, 130, 133, 134, 143, 144, 145; 2) инсерции (вставки) аминокислотных остатков 116 и 114/115; 3) мутации W172-stop вне пределов главного гидрофильного региона. Все образцы исследовали без разведения и в разведении 1:10 негативной плазмой крови человека.

В ходе исследования было установлено, что тест-система abia HBsAg выявляет оба субтипа (ad и ay) HBsAg. Все образцы с выявленными мутациями HBsAg в тесте abia HBsAg

были определены как положительные. Общая специфичность диагностикума abia HBsAg при исследовании 5008 образцов донорской крови составила 99,86%.

По результатам проведенного исследования авторы сделали вывод, что тест-система abia HBsAg обеспечивает более раннюю детекцию HBsAg по сравнению с референтным тестом. Новая тест-система abia HBsAg обладает достаточно широким арсеналом диагностических возможностей и характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью. Данная работа была представлена на 27 Европейском конгрессе клинической микробиологии и инфекционных болезней (ECCMID) в Австрии (Вена) в апреле 2017 года.

Многочисленные исследования последних лет свидетельствуют о выявлении вирусной ДНК в образцах сывороток крови человека, содержащих IgM к HBsAg, при отсутствии детекции HBsAg, что приводит к увеличению риска парентеральной трансмиссии ВГВ, и этот факт необходимо

учитывать при трансфузии крови и ее препаратов. В этой связи важно использовать высокочувствительные ИФА тест-системы для детекции IgM к HBsAg, что позволит снизить риск инфицирования ВГВ, особенно в период «серологического окна».

Коллектив специалистов НПО «Диагностические системы» также провел собственное исследование в данном направлении, оценивая диагностическую эффективность нового высокочувствительного теста для определения IgM к core антигену ВГВ с целью его использования для ранней диагностики гепатита В [14].

Аналитическую чувствительность новой тест-системы авторы оценивали с использованием стандарта Института Пауля-Эрлиха (Германия) — HBs-Referenzserum-IgM 84 (IgM анти-HBs). Диагностическую чувствительность тест-системы на IgM к HBs оценивали с использованием образцов панели PHE203 (BVI), четырех сероконверсионных панелей производства ZertoMetrix и BVI (США) и 264 положительных образцов сывороток крови от пациентов с наличием ВГВ-инфекции на разных стадиях. Диагностическую специфичность оценивали при исследовании различных когорт образцов сывороток крови: от первичных доноров ($n=1056$), клинических образцов ($n=386$), образцов сывороток крови с наличием потенциально перекрестно реагирующих веществ ($n=509$). Диагностическую эффективность набора оценивали в сравнении с данными референсных тест-систем с аналитической чувствительностью 25-50 U/ml PEI (Единица института Пауля Эрлиха, Германия¹).

В ходе данного исследования была определена аналитическая чувствительность нового теста, которая составила ≤ 10 U/ml PEI. Исследование образцов сероконверсионных панелей показало, что новая тест-система выявила 56 позитивных образцов из 92 образцов сероконверсионных панелей, по сравнению с коммерческой референсной тест-системой, выявившей 46 позитивных образцов. Диагностическая чувствительность разработанного теста составила 100% (264/264) по сравнению с чувствительностью референсной тест-системы, составившей 41% (108/264). Диагностическая специфичность разработанной тест-системы составила 99,6%.

Авторами работы был сделан вывод, что высокие показатели чувствительности и специфичности новой тест-системы обеспечивают более эффективное выявление IgM к core антигену ВГВ, определение которых имеет большое значение для диагностики текущей или перенесенной ВГВ-инфекции. Данное исследование опубликовано в материалах международного симпозиума по ВИЧ-инфекции и инфекционным болезням в 2014 году (Франция, Марсель).

Все научные исследования специалистов НПО «Диагностические системы» направлены на создание и совершенствование современных эффективных отечественных тест-систем для диагностики социально значимых заболеваний человека, в том числе парентеральных гепатитов В и С. Их внедрение в практическое здравоохранение позволит расширить ассортимент выпускаемой продукции, значительно повысить качество диагностики этих инфекций, тем самым обеспечить своевременное выявление и лечение больных на ранних стадиях.

¹ 1 U/ml PEI – соответствует 900 МЕ/мл в нативной сыворотке

Литература.

- ВОЗ. Европейское региональное бюро. *Руководство по хроническому гепатиту В: профилактика, помощь и лечение*. Март 2015:19 Available at: <http://www.euro.who.int/ru/health-topics/communicable-diseases/hepatitis/publications/2016/guidelines-for-the-prevention,-care-and-treatment-of-persons-with-chronic-hepatitis-b-infection-2015>.
- Государственный доклад «О состоянии санитарно - эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году». Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. М.; 2017:109 - 11. <http://rosпотреbnadzor.ru/>
- Yokosawa J., Ulanova T., Ioshimoto L., Granovski N., Miyaki C., Raw I et al. Antigenic properties of wild-type and mutant hepatitis B virus surface antigens. *10th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease*, Atlanta – Georgia, USA, April 9-13;2000. *Antivir Ther.* 2000; 5(1):27
- Ulanova T., Yokosawa J., Burkov A., Puzyrev V., Obriadina A. Antigenic property of different sequence variants of the hepatitis B surface antigen wild types and vaccine escape mutants. *14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – Prague - Czech Republic, May 1–4, 2004; P.1075
- Ulanova T.I., Igolkina S.N., Egorova N.I., Sharipova I.N., Puzyrev V.R., Obriadina A.P. et al. The new HBsAg ELISA-kit "DS-EIA-HBsAg-0.01" with the increased sensitivity. *12th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease*. – Paris - France, July 1-5, 2006.
- Egorova N., Pyrenkova I., Igolkina S., Sharipova I., Puzyrev V., Obriadina A. et al. Evaluation ability of DS-EIA-HBsAg-0,01 assay to reduce seroconversion window period. *17th Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion*. - Madrid – Spain, June 23-27, 2007.
- Egorova N.I., Igolkina S.N., Pyrenkova I.Y., Sharipova I.N., Puzyrev V.R., Obriadina A.P. et al. The serological profile of the samples with HBsAg concentration below detection limit of best currently available EIA kits. *13th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease*. - Washington - DC USA, March 20-24; 2009.
- Egorova N., Igolkina S., Pyrenkova I., Sharipova I., Puzyrev V., Obriadina A. et al. The serological profile of the samples with HBsAg concentration below detection limit of best currently available EIA kits. *21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.-Milan – Italy, 7-10 May; 2011.
- Egorova N., Igolkina S., Pyrenkova I., Sharipova I., Puzyrev V., Obriadina A. et al. The highly sensitive enzyme immunoassay for HBsAg detection as the alternative method to nucleic acid testing. *22th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – Vienna - Austria, 10-13 April; 2010 - P.1083.
- Egorova N., Igolkina S., Pyrenkova I., Sharipova I., Puzyrev V., Obriadina A. et al. Evaluation of diagnostic efficiency of the highly sensitive enzyme immunoassay for HBsAg detection. *The Viral Hepatitis Congress 2012*. - Frankfurt – Germany, 7-9 September; 2012 - P38. *J Viral Hepat*, 2012; 19 (3):5–30.
- Egorova N.I., Pyrenkova I.Y., Sharipova I.N., Puzyrev V.R., Burkov A.N., Ulanova T.I. The advantages of EIA assay with improved sensitivity for laboratory diagnostics of latent HBV infection in HIV-positive individuals. *14th European AIDS Conference*. – Brussels – Belgium, 15-19 October, 2013 –PE.13/15
- Egorova N., Igolkina S., Pyrenkova I., Sharipova I., Puzyrev V., Burkov A. et al. The advantages of EIA with improved sensitivity for the detection of low concentrations of HBsAg in samples with markers of HCV, HBV or HIV infections. *24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – Barcelona – Spain, 10-13 May; 2014 – P1397.
- Kochina E.S., Pyrenkova I.U., Ptitsyna Y.S., Egorova N.I., Maiorova E.U., Biallas S. et al. Improved detection of hepatitis B virus surface antigen by new enzyme immunoassay. *27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)*. – Vienna - Austria, 22-25 April; 2017 – EV0575
- Fedorova O.F., Khodak N.M., Bugrova N.A., Puzyrev V.R., Burkov A.N., Ulanova T.I. Evaluation of diagnostic efficiency of the new enzyme immunoassay for detection of IgM antibodies to hepatitis B core antigen. *International Symposium HIV and Emerging Infectious Diseases 2014* – Marseille – France; 21-23 May; 2014 – P85

Птицына Ю.С., Обрядина А.П., Шальнова Е.Е.

Научные и практические аспекты лабораторной диагностики оккультного гепатита В

ООО «НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород

Оккультный гепатит В

Инфекция, вызываемая вирусом гепатита В (ВГВ–инфекция), представляет одну из глобальных проблем, угрожающих человечеству. По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), 240 млн человек хронически инфицированы ВГВ (положительная реакция на наличие поверхностного антигена ВГВ (HBsAg) у них определяется в течение, по крайней мере, 6 месяцев). Приблизительно 686 тыс. человек умирают ежегодно от ВГВ-инфекции, включая цирроз и рак печени в результате хронической инфекции. ВГВ-инфекция характеризуется разнообразием клинических проявлений и исходов – от бессимптомного носительства с низким уровнем виремии до хронического гепатита В (ХГВ) с выраженной активностью и возможностью формирования неблагоприятных исходов – цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Цирроз печени и ГЦК развиваются у 20-30% хронически инфицированных взрослых больных [1].

Хроническая ВГВ-инфекция характеризуется наличием HBsAg и виремией. Ранее утверждалось, что исчезновение HBsAg у пациентов с ВГВ-инфекцией ассоциировано с прекращением виремии и ремиссией заболевания. Однако накопленный исследовательский материал свидетельствует, что ДНК вируса в низких концентрациях продолжает определяться в сыворотке крови и ткани печени у некоторых больных с недетектируемым уровнем HBsAg и при острой инфекции с самостоятельным разрешением, и при хронической инфекции или даже после успешно проведенного противовирусного лечения. Наличие данной клинической ситуации привело к возникновению концепции «оккультной (occult), скрытой (silent), латентной (latent)» ВГВ-инфекции (ОкГВ), которая характеризуется наличием вируса при недетектируемом уровне HBsAg [2].

В настоящем дайджесте публикаций представлен ряд работ зарубежных и российских авторов, проводивших исследования в данном направлении в последние годы.

В марте 2008 года в г. Таормина (Италия) при поддержке и участии ведущих специалистов Европейской ассоциации по изучению болезней печени (EASL) состоялся международный семинар-совещание, посвященный проблемам ОкГВ, в ходе которого была предложена классификация ОкГВ.

Экспертами EASL было дано определение истинной ОкГВ - инфекции, согласно которому оккультная форма ГВВ характеризуется выявлением ДНК вируса в ткани печени при отсутствии детекции HBsAg в периферической крови. В редких случаях ДНК ВГВ может определяться и в крови, но в очень низкой концентрации (менее 200 МЕ/мл).

По профилю выявляемых антител было предложено различать серопозитивный ОкГВ (анти-НВс+ и/или

анти-НВс+) и серонегативный ОкГВ (анти-НВс- и анти-НВс-).

По мнению экспертов, истинный ОкГВ необходимо отличать от «ложного». При «ложном» ОкГВ репликация вируса не подавлена, о чем свидетельствует высокий уровень ДНК ВГВ в крови (более 200 МЕ/мл). Было отмечено, что HBsAg в крови не обнаруживается в связи с мутациями в S гене, кодирующем белки вирусной оболочки [3].

Определение истинного латентного гепатита В дают и Российские эксперты в области вирусологии (Ивашкин В.Т. и соавт.) [4]. Согласно их описанию, существует вариант ВГВ-инфекции, когда HBsAg не обнаруживается, однако в плазме крови и/или ткани печени может выявляться ДНК ВГВ. Следует отметить, что об истинно латентной (или ОкГВ) инфекции можно говорить лишь в том случае, если HBsAg не обнаруживается при использовании современных высокочувствительных лабораторных методов (с чувствительностью не ниже 0,01 МЕ/мл). Часто при латентной инфекции в крови могут выявляться анти-НВс, а уровень виремии (если вирус обнаруживается в крови), как правило, низкий (менее 200 МЕ/мл) [4]. Изменение функциональных печеночных тестов и определение рутинного профиля серологических маркеров у больных ХГВ неуточненной этиологии может создавать определенные дифференциально-диагностические трудности и препятствовать выбору адекватного лечения у данной категории больных.

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

Впервые наблюдение о данной форме ВГВ-инфекции было опубликовано более 40 лет назад при развитии посттрансфузионного гепатита В (ГВ) при переливании крови донора, содержащей анти-НВс [5].

Распространенность

Появление современных более чувствительных методов молекулярной диагностики, способствовало распознаванию ОкГВ у возрастающего количества больных в различных регионах. С внедрением высокочувствительных методов, ОкГВ-инфекция выявлена в общей популяции; низкий уровень ДНК ВГВ выявляется в гепатоцитах больных ГЦК, в сыворотке крови доноров и их реципиентов, у больных, находящихся на гемодиализе, среди вакцинированных детей, при проведении пассивной иммунизации после трансплантации печени и при коинфекции вирусом гепатита С (ВГС) [6].

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

По данным Hollinger F.B. и соавт. в западных странах, таких как США, ОкГВ выявляется у 0,1-2,4% HBsAg-негативных, анти-НВс-позитивных (\pm анти-HBsAg) доноров крови [7].

Большой интерес представляет исследование Said Z.N. и соавт., посвященное проблемам лабораторной диагностики ОкГВ у доноров крови в Египте [8]. В этом исследовании приняли участие 3167 доноров крови, в образцах сывороток крови которых отсутствовали HBsAg, антитела к ВГС и вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ). При исследовании образцов сывороток крови этих доноров авторы определяли активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) и проводили скрининг на наличие суммарных антител (классов IgG и IgM) к core антигену ВГВ (НВсAg) с использованием двух различных методов: набором для проведения ИФА «Monolisa Anti-НВс PLUS» (производства «Bio Rad», Франция) и с помощью иммунохимического анализатора «ARC-НВс total» (производства «Abbot», США).

Уровень антител к HBsAg (анти-НВс) в позитивных образцах был определен при помощи ИФА-тест-системы «ETI-AB-AUK-3» («DiaSorin», Италия). Результат оценивали как положительный при уровне анти-НВс более 10 МЕ/л. С использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (набор реагентов от «QIAGEN», Германия, лимит детекции 3,8 МЕ/мл) проводили количественное определение ДНК ВГВ в образцах сыворотки крови не содержащих анти-НВс, а также в 32 образцах сыворотки крови, титр анти-НВс в которых составил более 1000 МЕ/л.

Кроме того, в исследование были включены 265 реципиентов, 34 из которых наблюдались в течение 3-6 месяцев. Реципиентов обследовали на АЛТ и АСТ и такие серологические маркеры ГВ как HBsAg («ETI-МАК-4», DiaSorin, Италия) и анти-НВс. У них также определяли количественный уровень анти-НВс и ДНК ВГВ.

Полученные результаты показали, что из 3167 образцов сывороток донорской крови в 525 (16,6%) образцах детектированы антитела к НВсAg, из них в 64% образцов обнаружены антитела к HBsAg. В подтверждающем тесте на анти-НВс «ARC-НВс total» исследовали 498 из 525 анти-НВс позитивных образцов, при этом 451 (90,6%) образец был подтвержден как позитивный. При исследовании на анти-НВс образец донорской крови признавался положительным и подлежал исследованию в подтверждающем тесте только при получении хотя бы одного положительного результата при повторном тестировании, общая распространенность анти-НВс в обследованной популяции составила 14,2% (451/3167). Использование количественного метода ПЦР в реальном времени позволило авторам определить ДНК ВГВ в 52 из 303 (17,2%) анти-НВс позитивных образцов донорской крови (диапазон вирусной нагрузки 5-3,5 $\times 10^5$ МЕ/мл) с медианой вирусной нагрузки в 200 МЕ/мл (среднее значение: $1,8 \times 10^4 \pm 5,1 \times 10^4$ МЕ/мл). У 68,6% доноров анти-НВс оказался единственным выявленным

серологическим маркером ГВ. Однофакторный и многофакторный логистический анализы данных, проведенные для выявления факторов риска, ассоциированных с наличием анти-НВс и ДНК ВГВ у доноров крови показал, что возраст старше 30 лет и состояние в браке являлись наиболее значимыми прогностическими факторами для обнаружения анти-НВс. Не выявлено ассоциации других факторов риска, таких как пол, наличие в анамнезе гемотрансфузий, сахарного диабета, частых инъекций, процедур татуажа, хирургических операций и лечение в стационарных условиях, шистосомоза или наличие в семейном анамнезе инфекций, вызванных ВГВ или ВГС, с положительным результатом на анти-НВс. Среди анти-НВс позитивных доноров крови, возраст 30 лет или моложе оказался самым значимым прогностическим фактором, определяющим выявление ДНК ВГВ. По уровню концентрации ДНК ВГВ, позитивные образцы сывороток крови были разделены на две группы; группа с уровнем ДНК ВГВ ≥ 200 ед/мл ($n=27$) и группу с ДНК ВГВ < 200 МЕ/мл ($n=26$). Авторами работы не выявлено значимых различий между обеими группами по возрасту, полу, результатам анализа на аминотрансферазы и маркеры ВГВ. При обследовании всех наблюдаемых реципиентов, серологические маркеры ВГВ обнаружены не были. Кроме того, у обследованных реципиентов не детектирована также ДНК ВГВ, ни у кого из них не развился посттрансфузионный гепатит, и отмечен благоприятный клинический исход.

На основании полученных данных, авторы сделали заключение, что ОкГВ-инфекция распространена среди доноров крови в Египте. Скрининг донорской крови на анти-НВс и использование NAT-методов позволят, по мнению авторов исследования, определить остаточные риски трансфузионного инфицирования ВГВ реципиентов из групп высокого риска и обеспечить инфекционную безопасность гемотрансфузий.

Небезынтересны результаты исследования Rios-Ocampo W.A. и соавт. (Колумбия), по определению частоты ОкГВ-инфекции среди доноров крови города Медельин на северо-западе Колумбии и характеристике генотипов и мутаций вируса [9].

Образцы сывороток донорской крови с серологическим профилем HBsAg-/анти-НВс+ авторы оценивали при помощи «гнездовой» и «полугнездовой» ПЦР для определения С, S и X генов ВГВ. Проводили сравнительный парный анализ аминокислотной последовательности перекрывающихся S/P генов ВГВ. В общей сложности 302 образца сывороток крови (HBsAg-/анти-НВс+), полученных из банка донорской крови в Медельине, исследовали при помощи ПЦР для расшифровки генома ВГВ.

В ходе исследования в 6 случаях (1,98%) была выявлена ОкГВ-инфекция. Случаи инфицирования подтверждены при помощи секвенирования ДНК ВГВ и определения уровня вирусной нагрузки. У всех штаммов ВГВ определен генотип F, субгенотип F3. Аминокислотные замены sY100H, sV184A и sK141N были обнаружены в S-гене вируса; rtL108P, rtR110G, rtL180M, rtR192C, rtT150S и rtL187V - в P-гене.

Впервые в данном исследовании представлен отчет и охарактеризованы случаи ОкГВ у доноров крови в Колумбии.

Шесть из 302 донорских образцов сывороток крови были идентифицированы как HBsAg-/анти-HBc+. Мутации rtL108P, rtR110G, rtR192C, rtT150S и rtI187V при исследовании этих образцов были охарактеризованы впервые. По мнению авторов работы необходимо проведение новых исследований, направленных на дальнейшее изучение влияния описанных мутаций на продукцию HBsAg.

Группа специалистов из Нигерии и Германии (Oluyinka O.O. и соавт.) определяла фактическую распространенность ОжГВ, вирусную нагрузку и генотип ВГВ, вызывающего ОжГВ у доноров крови в Нигерии, а также риски трансмиссии ВГВ [10].

Авторы исследовали образцы сывороток крови, полученные из двух банков донорской крови, показавшие негативный результат на HBsAg при исследовании в подтверждающем ИФА-тесте. В качестве контроля использовали 40 HBsAg-позитивных образцов сывороток крови. Во всех образцах сывороток донорской крови при помощи ПЦР в реальном времени одновременно амплифицировали ДНК ВГВ и определяли количество ДНК (вирусную нагрузку). Определяли антитела к HBc, HBsAg и HBeAg ВГВ. Секвенировали PreS/S и PreC/C регионы генома ВГВ.

При исследовании 429 образцов сывороток крови доноров в разных референсных лабораториях в 72 (17%) случаях была детектирована ДНК ВГВ, что подтвердило наличие ОжГВ, возможность контаминации вирусом была исключена. Из 72 образцов с подтвержденной ОжГВ в 31 (43%) образце сывороток крови были детектированы анти-HBc, анти-HBs или HBeAg, в 21 образце (30%) одновременно детектировали анти-HBc и анти-HBs, в одном образце обнаружены анти-HBc и HBeAg. Ни в одном из образцов с ОжГВ не были выявлены все три серологических маркера. Вирусная нагрузка при исследовании образцов с ОжГВ составила менее 50 копий/мл, преобладал генотип E вируса. Полиморфизм L217R обратной транскриптазы в домене гена, кодирующего ДНК-полимеразу ВГВ, наблюдался значительно выше у лиц с наличием ОжГВ, чем у HBsAg-позитивных ($p < 0,0001$).

Авторы работы констатируют, что высокий уровень заболеваемости ОжГВ характерен для высокоэндемичных регионов мира и является общей проблемой инфекционной безопасности донорской крови. Данное исследование продемонстрировало высокий уровень распространенности ОжГВ, в связи с чем в Нигерии с целью минимизации риска передачи ВГВ-инфекции до начала гемотрансфузий рекомендовано проводить предварительное исследование образцов сывороток донорской крови для детекции ДНК вируса и/или анти-HBc.

Определенный интерес представляет совместная работа специалистов из Нигерии, Йемена и Малайзии (Hudu S.A. и соавт.) по диагностике ОжГВ у здоровых доноров крови Малайзии с отрицательным результатом анализа на HBsAg с использованием молекулярного и серологического методов [11].

Исследователи акцентируют внимание на том, что ОжГВ в настоящее время становится серьезной глобальной проблемой, однако имеющиеся данные о его распространенности в разных частях мира часто расходятся. В своей работе авторы оценивали надежность лабораторной

диагностики ОжГВ-инфекции по выявлению анти-HBc, являющихся маркером перенесенной инфекции и определяющих распространенность ОжГВ среди малазийских доноров крови.

В общей сложности авторы исследовали 1000 случайно отобранных образцов сывороток донорской крови, негативных по HBsAg, на наличие антител к core (анти-HBc) и HBsAg (анти-HBs) при помощи методов ИФА и гнездовой ПЦР (nested-ПЦР) с праймерами, специфичными к S-гену генома ВГВ.

Из 1000 образцов сывороток крови 55 (5,5%) образцов оказались реактивными, из них в 87,3% (48/55) образцов выявлены антитела к HBsAg, что может свидетельствовать о наличии иммунитета после перенесенной инфекции, но не исключает вероятности активной инфекции, вызываемой «ускользающими» мутантами ВГВ. В ходе исследования при помощи гнездовой ПЦР обнаружена вирусная ДНК во всех 55 образцах сывороток крови, позитивных на наличие core антигена, что согласуется с результатами определения антител к HBsAg. Распространенность ОжГВ среди малазийских доноров крови составила 5,5%.

Полученные результаты позволили авторам исследования сделать вывод о надежности определения антител к core антигену ВГВ при скрининге ОжГВ-инфекции в низкоэндемичных регионах, с низким уровнем социально-экономического развития.

Изучению серологической характеристики ОжГВ-инфекции среди доноров крови в Индии была посвящена работа Doda V. и соавт [12].

Авторы проводили скрининговое исследование HBsAg ИФА-негативных, но ID-NAT реактивных образцов сывороток донорской крови на наличие антител к HBc, HBs и HBe (анти-HBc, анти-HBs и анти-HBe). Молекулярный анализ NAT-реактивных образцов проводили для определения уровня вирусной нагрузки и генотипа вируса.

Были исследованы 28134 HBsAg ИФА-негативных образца сывороток донорской крови. В результате их тестирования при помощи ID-NAT в 25 образцах была обнаружена ДНК ВГВ. Восемнадцать из 25 NAT-позитивных образцов были исследованы на наличие других маркеров ВГВ-инфекции. Из 18 NAT-позитивных образцов в 12 образцах (66,6%) обнаружены анти-HBc; в 3 (25%) из них выявлены также и анти-HBs. В 5 образцах (27,7%) из 18 NAT-позитивных образцов никаких серологических маркеров не обнаружено. В 4 образцах из 12 NAT – позитивных образцов с наличием анти-HBc определен генотип А ВГВ.

В ходе исследования индивидуальных донаций при помощи ID-NAT-метода молекулярной детекции ДНК ВГВ авторы обнаружили и проанализировали 18 NAT-позитивных образцов сывороток донорской крови из 28134 HBsAg ИФА-негативных образцов. У 12 из 18 доноров диагностирован ОжГВ, у остальных 6 доноров - серонегативный ГВ (образцы получены в период «серологического окна»). В 3,6 NAT-позитивных в ID-NAT образцов не было обнаружено никаких серологических маркеров.

Авторы данной работы подчеркивают необходимость тщательного скрининга на ВГВ-инфекцию всех образцов донорской крови.

Вирусологические и иммунологические аспекты оккультного гепатита В

Длительная персистенция кольцевой ДНК вируса в ядрах гепатоцитов

Интересные факты по данной теме приведены в обзоре Morales-Romero J. и соавт. [13]. Возможно, особенности жизненного цикла ВГВ могут раскрыть причины формирования ОкГВ. Хотя конкретные механизмы, опосредующие формирование ОкГВ, до конца неясны, установлено, что для носителей ОкГВ характерна продолжительная персистенция ковалентно-замкнутой кольцевой ДНК вируса (сccDNA) в ядрах гепатоцитов. Ковалентно-замкнутая кольцевая ДНК является промежуточной репликативной формой вирусной ДНК. Она очень стабильна, сохраняется в клеточном ядре в виде эписомальной ДНК и служит матрицей для транскрипции генов. Такие факторы, как стабильность и длительная персистенция сccDNA в ядрах гепатоцитов, а также высокая продолжительность жизни клеток печени способствуют сохранению инфекции до конца жизни человека [13].

Интеграция вирусного генома в хромосому хозяина

Согласно наблюдениям Brechost C. и соавт. интеграция последовательностей ДНК ВГВ в геном хозяина часто встречается у пациентов с хронической формой инфекции и больных ГЦК. Однако в процессе интеграции часть генетической информации может быть утрачена. Результатом этого может быть отсутствие HBsAg в сыворотке крови, снижение продукции вирионов, недетектируемый уровень вирусной ДНК в сыворотке крови. Возможно, что интеграция вирусной ДНК является ключевым механизмом, лежащим в основе формирования оккультного гепатита после нескольких лет хронической инфекции [14].

По результатам исследований Kawai S. и соавт. высокий уровень интеграции ДНК ВГВ выявлен у HBsAg-положительных больных ГЦК [15].

По данным другой группы японских исследователей (Motosaki S. и соавт.) интеграция вирусной ДНК также широко распространена среди HBsAg-негативных больных ГЦК [16, 17].

Генетические мутации

Изучение механизмов возникновения ОкГВ-инфекции поддерживающих низкий, но стабильный уровень репликации вируса, позволило исследователям выявить наличие мутаций вируса в S-регионе. Мутации в преS/S регионе могут вызывать изменения антигенных свойств HBsAg и подавление продукции анти-HBs. С некоторыми типами мутаций в этом регионе может быть ассоциировано возникновение ОкГВ-инфекции [18].

По мнению Samal J. и соавт. мутации генома ВГВ, а именно точечные мутации в «а» детерминанте HBsAg; мутации, позволяющие вирусу избегать воздействия медикаментозной терапии; сплайсинг; а также мутации в пре-S регионе напрямую связаны с развитием ОкГВ [19].

Мутации ВГВ, в результате которых вирус не распознается иммунной системой и которые позволяют ему ускользать от вакцин-индуцированного ответа, происходят

в «а» детерминанте главного гидрофильного региона (MHR) HBsAg. В настоящее время хорошо известно, что наиболее часто встречающаяся замена G145R позволяет HBsAg уходить от иммунного распознавания, образуются так называемые «ускользающие» мутанты ВГВ (escape-mutants). Однако влияние этой мутации на структуру и иммунореактивность HBsAg изучено мало.

Группа авторов из Ирана (Rezaee R. и соавт.) опубликовала свое экспериментальное исследование в данном направлении [20]. Авторами была предсказана и смоделирована трехмерная (3D) структура HBsAg дикого и мутантного типа (HBsAg G145R). После проведения количественного анализа исследователи изучали влияние мутации G145R на вторичную и трехмерную структуру HBsAg. Параллельно с использованием док-сервера ClusPro и веб-базы данных иммунологических эпитопов IEDB (Immune Epitope Database) были проанализированы иммуногенные свойства HBsAg дикого и мутантного типов. Дальнейший анализ проводили при помощи моделирования молекулярной динамики (MD) с использованием пакета программ Gromacs v5.0.2.

В ходе исследования было установлено, что мутация G145R приводит к конформационным изменениям антигенных петель HBsAg, что вызывает значительное снижение иммунореактивности HBsAg. В результате этой мутации происходит формирование новой β -спирали в области «а» детерминанты HBsAg, что приводит к снижению аффинности связывания моноклональных антител, МКА12 с HBsAg. Мутация G145R также повышает компактность и стабильность HBsAg за счет увеличения прочности «а» детерминанты.

Исследователи отмечают, что полученные результаты могут быть полезны для разработки более совершенных методов детекции антител к HBsAg и для создания более эффективных вакцин против ГВ.

Коллективом авторов из Японии (Komatsu H. и соавт.) проведено исследование по оценке мутантных форм ВГВ с заменой G145R в качестве «минорного штамма» при перинатальной передаче инфекции от матери ребенку [21]. Авторы обращают внимание на то, что до настоящего времени остается неизвестной роль мутантного варианта G145R ВГВ с единичной заменой в 145 аминокислоте поверхностного антигена (HBsAg), «как минорного штамма», в передаче инфекции от матери ребенку.

В своей работе они оценивали «минорный» и основной штаммы ВГВ с мутацией G145R при проведении исследования в трех группах пациентов при помощи ПЦР в режиме реального времени. В группу «прорыва» инфекции включили детей, родившихся у женщин носительниц ВГВ, которые, несмотря на курс иммунопрофилактики, стали носителями вируса ($n=25$). В контрольную группу вошли носители ВГВ, которые ранее не были вакцинированы против ГВ, не получали специфический иммуноглобулин против ВГВ (HBIG) и не проходили курс противовирусной терапии ($n=126$). В третью группу вошли беременные женщины с ХГВ ($n=31$).

В группе «прорыва» инфекции положительный результат ПЦР получен в 6 случаях (основной штамм мутанта G145R - 2, «минорный» штамм - 4). В контрольной группе положительный результат ПЦР получен у 13 пациентов

(основной штамм – 0, «минорный» штамм – 13). У пациентов с наличием HBeAg обнаружен «минорный» штамм мутанта G145R. Глубокое секвенирование генома ВГВ было проведено в общей сложности у 32 детей (позитивный результат ПЦР $n=13$; негативный результат ПЦР $n=19$). В группе «прорыва» инфекции частота встречаемости варианта ВГВ с мутацией G145R варьировала от 0,54 до 6,58%. В контрольной группе частота встречаемости варианта ВГВ с мутацией G145R варьировала от 0,42 до 4,1%.

В группе беременных женщин положительный результат ПЦР получен в 4 случаях из 31 (основной штамм $n=0$; «минорный» штамм, $n=4$). У всех беременных обнаружены HBeAg и высокий уровень вирусной нагрузки.

Обследованы трое детей, родившихся у трех женщин (из группы беременных) с выявленным мутантом G145R. После проведения полного курса вакцинации против ВГВ у 2 детей перестал определяться HBsAg. У третьего ребенка HBsAg перестал определяться после введения первой дозы вакцины против ВГВ. В целом, HBsAg с мутацией G145R был обнаружен у четверти детей получивших неполный курс вакцинации.

По результатам своего исследования авторы работы пришли к выводу, что выявление минорного штамма ВГВ с мутацией G145R у беременных женщин не всегда является причиной возникновения инфекции у детей [21].

Заслуживает внимания и недавнее исследование российских авторов (Елпаева Е.А. и соавт.) о роли мутантных форм ВГВ в прогрессирующем течении ХГВ [22]. Цель исследования состояла в определении распространенности генотипов ВГВ, циркулирующих в северо-западном регионе России (Санкт-Петербурге, Ленинградской области и Республике Карелия), выявлении мутаций, ответственных за развитие устойчивости к аналогам нуклеозидов/нуклеотидов, а также preS/S-мутаций, влияющих на синтез HBsAg и течение ХГВ.

Авторы обследовали 579 больных ХГВ на наличие ВГВ в крови и/или ткани печени. Генотип вируса был определен у 226 больных, секвенирование фрагмента гена полимеразы выполнено у 49 пациентов, особенности клинического течения ХГВ изучены у 67 больных (у 26 пациентов с наличием HBsAg и у 41 пациента - с серологическими признаками preS/S-мутаций).

В ходе исследования вирусная ДНК выявлена у 323 (55,8 %) больных ХГВ, генотип D обнаружен у 183 (81,0 %), генотип A у 37 (16,4 %) и микст D+A у 6 (2,7 %) пациентов. Среди 49 пациентов первичные, вторичные и паттерн-мутации устойчивости к аналогам нуклеозидов выявлены у 14 (28,6 %) пациентов, данные мутации вызывали рецидив ВГВ-инфекции. PreS/S-мутации, ответственные за исчезновение HBsAg, выявлены у 2 (4,1 %) пациентов. Клинические наблюдения авторов позволили им также установить, что preS/S-мутантная вирусная инфекция при длительном течении ХГВ (>20 лет) вызывала прогрессирование некротически-воспалительного и фибротического процессов в печени и трансформацию гепатита в цирроз печени.

В итоге, группа исследователей пришла к заключению, что оценка генетической структуры ВГВ имеет большое значение для диагностики, противовирусной терапии и прогнозирования клинического течения ХГВ [22].

Gerlich W.H. и соавт. идентифицировали новый вариант сплайсинга РНК (удаление нуклеотидов 2986-202), который отменяет экспрессию гена поверхностного белка без влияния на функции, связанные с полимеразой, ядром или Х-белком. Этот вариант сплайсинга 2986-202 генерирует внутриклеточные вирусные частицы, лишённые поверхностного белка. Такие вирусы испытывают недостаток в автономном распространении и не могут покидать клетку-хозяина до тех пор, пока она не будет лизирована [23].

Особенности иммунного ответа организма хозяина

Иммунный ответ хозяина непосредственно влияет на исход заражения ВГВ (освобождение организма от вирусной инфекции, вирусную персистенцию и иммунопатогенез). Так, например, Martin С.М. и соавт. сравнивали профили экспрессии цитокинов сыворотки у ВИЧ-инфицированных пациентов с ХГВ и с ОкГВ-инфекцией [24]. Более низкие уровни растворимого Fas (sFas) были обнаружены при ОкГВ-инфекции. Известно, что система экспрессии Fas контролирует апоптоз инфицированных гепатоцитов, а также играет ключевую роль в удалении старых гепатоцитов и поддержании нормального гомеостаза печени. Авторы проведенного исследования утверждают, что обнаружение более низких уровней sFas указывает на снижение апоптотического ингибирования и может быть одной из причин снижения скорости репликации вируса при ОкГВ-инфекции [24].

Некоторые особенности ВГВ-специфического клеточного иммунного ответа были описаны при ОкГВ. Так, по данным Hollinger F.B. и соавт., для анти-HBcore (+) больных ОкГВ характерен типичный Т-клеточный иммунный ответ с участием Т-клеток памяти, напротив, ВГВ-специфический Т-клеточный ответ не наблюдался у пациентов с анти-HBcore (-) [25].

Диагностика occultного гепатита В

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

В плане перспектив совершенствования диагностики ОкГВ определенный интерес представляет аналитическая работа Allain J.P. из Кембриджского университета (Великобритания) о неблагоприятных последствиях гемотрансфузий из-за наличия у доноров ОкГВ [26].

Автор работы отмечает, что остаточный риск трансфузионного инфицирования для ВГВ выше, чем для ВГС и ВИЧ. Несмотря на то, что при проведении скрининга крови на наличие HBsAg большинство инфицированных доноров отбраковывается, существуют доказательства в пользу того, что при переливании HBsAg-негативной крови и ее компонентов возможно заражение ВГВ, в частности, в период «серонегативного окна» и на поздних стадиях ОГВ. Присутствие ДНК вируса в сыворотке крови доноров с недетектируемым уровнем HBsAg при наличии или отсутствии антител к ВГВ, соответствует ОкГВ. Частота выявления ОкГВ зависит от

чувствительности методов исследования, используемых для определения HBsAg и ДНК ВГВ. Она также зависит от распространенности ВГВ-инфекции среди населения. При ОжВ после выздоровления могут определяться антитела к HBsAg (анти-HBs) и регистрироваться постоянный низкий уровень вирусемии, «ускользающие» HBsAg-мутанты, или здоровое носительство антител к е-антигену (анти-HBe) и ядерному антигену вируса (анти-HBc). В дальнейшем, концентрация анти-HBe, а позднее и анти-HBc падает до недетектируемого уровня. Автор констатирует, что все вышеописанные варианты регистрируются в основном у иммунокомпрометированных лиц, например, у реципиентов органов или костного мозга. Описаны факты отсутствия признаков инфекции у иммунокомпетентных реципиентов, получавших компоненты донорской крови, содержащие анти-HBs (даже в низком титре), но отсутствуют доказательства, что анти-HBs являются маркером инфекции. Присутствие только анти-HBc или анти-HBc с ДНК ВГВ может быть связано с инфицированием крови, но иногда ДНК ВГВ может детектироваться при отсутствии каких-либо серологических маркеров ВГВ.

В заключение Alain J.P. приходит к выводу, что внедрение технологии амплификации нуклеиновых кислот (NAT) ВГВ позволяет выявлять ОжВ обычно при вирусной нагрузке < 500 МЕ/мл, однако этот метод оказался неприемлемым для тестирования пулов плазмы. Использование методов обогащения генома, по мнению автора, позволит значительно повысить чувствительность NAT и улучшить качество тестов.

Согласно информации, представленной в обзоре Said Z.N., определение ДНК ВГВ в биоптатах печени – наиболее точный способ диагностики ОжВ [27]. Однако зачастую не представляется возможным получить биоптат от пациента. Следует отметить, что методика оценки ДНК ВГВ в тканях печени еще недостаточно стандартизирована и не получила одобрение со стороны Управления США за качеством продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA). Метод амплификации ДНК ВГВ является «золотым стандартом» среди методов выявления ОжВ. Анализ ДНК, экстрагированной из тканей печени или плазмы крови, следует проводить с помощью ПЦР в реальном времени или методом гнездовой ПЦР. Ложнопозитивных результатов исследования можно избежать, если использовать ПЦР праймеры, которые охватывают не менее трех участков генома вируса (S, X и core гены). Детекция ОжВ требует использования методов анализа с наиболее высокой чувствительностью и специфичностью. Лимит детекции ДНК ВГВ должен быть менее 10 МЕ/мл. Чувствительность тестов, используемых для выявления HBsAg в крови, должна быть менее 0,1 нг/мл [27].

Японские ученые из группы Yoshikawa A. и соавт. протестировали образцы крови 17 млн доноров [28]. Они обнаружили 328 ДНК ВГВ-положительных образцов. У 26 доноров была исследована динамика вирусных маркеров при развитии острой ВГВ-инфекции. Из обследованных 26 доноров 6 были инфицированы мутантными формами ВГВ. За весь период наблюдения у 3 из 6 доноров так и не был выявлен детектируемый уровень HBsAg, несмотря на умеренно высокую вирусную нагрузку ДНК ВГВ от 104 до 105 копий/мл.

На основании полученных данных авторы сделали вывод о том, что методы амплификации ДНК ВГВ, даже если их использовать для оценки минипулов, более эффективны, нежели оценка HBsAg, и позволяют исключить инфицированных доноров.

В работе отечественных авторов Еремеевой Ж.Г. и Фазылова В.Х. проанализированы данные 61 155 доноров Республиканского центра крови (Республика Татарстан, г. Казань), полученные в 2010–2014 гг. Анализировали результаты исследования образцов сывороток крови на HBsAg, суммарные антитела к ядерному антигену (anti-HBc-total), иммуноглобулины класса М к ядерному антигену (anti-HBc IgM) (при помощи ИФА) и ДНК вируса в крови (при помощи ПЦР в «реальном времени»). Установлено, что доноры с ОжВ выявляются ежегодно, хотя и отмечена тенденция к снижению их числа. Для предотвращения распространения вируса в популяции рекомендуется ввести в стандарт диагностики ВГВ-инфекции определение маркера anti-HBc-total [29].

В обзоре российских специалистов из Санкт-Петербурга (Улюкина И.М. и соавт.), посвященном особенностям клинико-лабораторной диагностики парентерального ГВ, авторы констатируют, что выявление латентной формы болезни у пациентов с анти-HBc в сыворотке крови ставит вопрос о целесообразности обследования доноров не только на HBsAg, но и на анти-HBc с исключением анти-HBc-положительных пациентов из донорства, особенно донорства органов [30].

Кроме того, поскольку вирусная нагрузка у больных с изолированными «анти-HBc Ig» крайне мала, существует потенциальный риск необнаружения ДНК ВГВ при ПЦР-исследовании пула образцов донорской крови, и скрининг на анти-HBc может способствовать уменьшению остаточного риска. Так как уровень инфицированности ВГВ у больных с множественными трансфузиями достоверно выше, чем у доноров крови, и при этом основным маркером инфицированности является именно анти-HBc, введение теста на этот маркер представляется актуальным для селекции доноров. Изучение ОжВ-инфекции затруднено необходимостью исследования молекулярно-биологическими методами биоптатов печени «благополучных» HBsAg-негативных пациентов, у которых отсутствуют показания к биопсии печени. Считается, что для верификации ОжВ достаточно информативны специфические серологические ИФА тесты на суммарные анти-HBc (total) (встречаемость в 100,0% случаев) и анти-HBe (встречаемость в 93,3% случаев). Выявление случаев возникновения ВГВ после переливания «серонегативной» по HBsAg крови свидетельствует о необходимости внедрения в практическое здравоохранение методов детекции антигена, обладающих более высокой чувствительностью с сохранением высокой специфичности. Повышение чувствительности тест-систем для выявления HBsAg и расширение спектра мутаций, выявляемых с их помощью, будет способствовать улучшению выявляемости случаев скрытой формы ВГВ-инфекции, что представляется существенным для изменения социальной структуры доноров и мотивации донорства [29].

Таким образом, большинство современных исследований в данной области представляют несомненный

профессиональный интерес для широкого круга ученых и специалистов медико-биологического профиля и могут

быть полезны для решения проблем практического здравоохранения.

Литература.

1. Гепатит В. *Информационный бюллетень ВОЗ*. Июль 2016; (204) Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/ru/>
2. Hu K.Q. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepat*. 2002 Jul; 9(4):243-57.
3. Raimondo G., Allain J.P., Brunetto M.R., Buendia M.A., Chen D.S., Colombo M. et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2008 Oct; 49(4):652-7.
4. Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д., Маевская М.В., Знойко О.О., Дудина К.Р., Кареткина Г.Н. и др. *Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом В*, утв. Минздравом РФ 06.08.2014 г. М.; 2014.
5. Tabor E., Hoofnagle J.H., Smallwood L.A., Drucker J.A., Pineda-Tamondong G.C., Ni L.Y. et al. Studies of donors who transmit posttransfusion hepatitis. *Transfusion*. 1979 Nov-Dec; 19 (6): 725-31
6. Лопаткина Т.Н. Латентная инфекция, вызванная вирусами гепатита В и С. *Клиническая гепатология*. 2009; 2: 3-8.
7. Hollinger F.B. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion*. 2008; 48:1001–26.
8. Said Z.N., Sayed M.H., Salama II, Aboel-Magd E.K., Mahmoud M.H., Setouhy M.E. et al. Occult hepatitis B virus infection among Egyptian blood donors. *World J Hepatol*. 2013. Feb 27; 5(2):64-73.
9. Rios-Ocampo W.A., Cortes-Mancera F., Olarte J.C., Soto A., Navas M.C. Occult hepatitis B virus infection among blood donors in Colombia. *Virology*. 2014. Nov 29; 11:206.
10. Oluyinka O.O., Tong H.V., Bui Tien S., Fagbami A.H., Adekanle O., Ojuronbe O. et al. Occult hepatitis B virus infection in Nigerian blood donors and hepatitis B virus transmission risks. *PLoS One*. 2015 Jul 6; 10(7):e0131912.
11. Hudu S.A., Harmal N.S., Saeed M.I., Alshrari A.S., Malik Y.A., Niazlin M.T. et al. Molecular and serological detection of occult hepatitis B virus among healthy hepatitis B surface antigen-negative blood donors in Malaysia. *Afr Health Sci*. 2016 Sep; 16(3):677-83.
12. Doda V., Arora S., Kirtania T. Serological characterization of occult hepatitis B virus infection among blood donors in India. *Transfus Apher Sci*. 2014. Oct; 51(2):162-7.
13. Morales-Romero J., Vargas G., García-Román. R. Occult HBV infection: a faceless enemy in liver cancer development viruses. *Viruses*. 2014 Apr; 6 (4): 1590-611.
14. Brechot C., Kremsdorf D., Soussan P. Hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC): molecular mechanisms and novel paradigms. *Pathol.Biol.* (Paris). 2010 Aug; 58 (4):278 – 87.
15. Kawai S., Yokosuka O., Imazeki F., Maru Y., Saisho H. State of HBV DNA in HBsAg-negative, anti-HCV-positive hepatocellular carcinoma: existence of HBV DNA possibly as nonintegrated form with analysis by Alu-HBV DNA PCR and conventional HBV PCR. *J. Med.Virol*. 2001 Aug; 64 (4):410–18.
16. Momosaki S., Nakashima Y., Kojiro M., Tabor E. HBsAg-negative hepatitis B virus infections in hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. *J. Viral Hepat*. 2005 May; 12 (3):325–9.
17. Tamori A., Nishiguchi S., Kubo S., Narimatsu T., Habu D., Takeda T. et al. HBV DNA integration and HBV-transcript expression in non-B, non-C hepatocellular carcinoma in Japan. *J. Med. Virol*. 2003 Dec; 71 (4):492–8.
18. Shi Y.H. Correlation between hepatitis B virus genotypes and clinical outcomes. *Jpn . J. Infect Dis*. 2012. 65(6):476-82.
19. Samal J., Kandpal M., Vivekanandan P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Jan; 25 (1):142-63.
20. Rezaee R., Poorebrahim M., Najafi S., Sadeghi S., Pourdast A., Alavian S.M. et al. Impacts of the G145R mutation on the structure and immunogenic activity of the hepatitis B surface antigen: a computational analysis. *Hepat Mon*. 2016 Jun 28; 16(7):e39097.
21. Komatsu H., Inui A., Umetsu S., Tsunoda T., Sogo T., Konishi Y. et al. Evaluation of the G145R mutant of the hepatitis B virus as a minor strain in mother-to-child transmission. *PLoS One*. 2016 Nov 3; 11(11):e0165674.
22. Елпаева Е.А., Писарева М.М., Никитина О.Е., Кижло С.Н., Грудинин М.П., Дуданова О.П. Роль мутантных форм вируса гепатита В в прогрессирующем течении хронического гепатита В. *Ученые записки Петрозаводского государственного университета*. 2014; 6 (143): 41-6.
23. Gerlich W.H., Bremer C., Saniewski M., Schüttler C.G., Wend U.C., Willems W.R., Glebe D. Occult hepatitis B virus infection: detection and significance. *Dig Dis*. 2010; 28 (1): 116 -25.
24. Martin C.M., Welge J.A., Shire N.J., Shata M.T., Sherman K.E., Blackard J.T. Cytokine expression during chronic versus occult hepatitis B virus infection in HIV coinfecting individuals. *Cytokine*. 2009 Sep; 47 (3):194–8.
25. Hollinger F.B., Sood G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation. *J. Viral Hepat*. 2010 Jan; 17(1):1–15.
26. Allain J.P. Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. *Vox Sang*. 2004 Feb; 86(2):83-91.
27. Said Z.N. An overview of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 2011 Apr; 17(15): 1927-38.
28. Yoshikawa A., Gotanda Y., Minegishi K., Taira R., Hino S., Tadokoro K. et al. Lengths of hepatitis B viremia and antigenemia in blood donors: preliminary evidence of occult (hepatitis B surface antigen-negative) infection in the acute stage. *Transfusion*. 2007 Jul; 47(7): 1162-71.
29. Еремеева Ж.Г., Фазылов В.Х. Выявление оккультного гепатита при тестировании донорской крови. *Вестник РГМУ*. 2017(1): 66-9.
30. Улюкин И.М., Орлова Е.С., Буланьков Ю.И. Оккультный гепатит В в свете обеспечения инфекционной безопасности гемотрансфузий и контроля противовирусной терапии заболевания. *Вестник Санкт-Петербургского университета*. 2015; 11(4):156-72.

**Тест-системы для диагностики гепатита В
производства ООО «НПО «Диагностические системы»**

Наименование тест-системы, краткое описание	Каталожный номер	Количество анализов	Срок годности
ДС-ИФА-НВsAg (комплекты 1, 2, 3, 4) № ФСР 2008/03019 Тест-система иммуноферментная для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В в сыворотке или плазме крови человека. Набор диагностический. Чувствительность набора - 0,1 МЕ/мл (термостат); 0,05 МЕ/мл термостатируемый шейкер), 0,01 МЕ/мл (термостат, 37±1,0°С, 18 часов). <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	В – 1155 В – 1152 В – 1154 В -1156	96x5 96x2 96 48 (для подтверждения)	24 месяца
ДС-ИФА-НВsAg-0,01 (комплекты 1, 2, 3, 4) CE ₀₄₈₃ № ФСР 2010/07301 Тест-система иммуноферментная для выявления или подтверждения поверхностного антигена вируса гепатита В в сыворотке или плазме крови человека. Набор диагностический. Чувствительность набора -0,01 МЕ/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	В – 1255 В – 1252 В – 1254 В -1256	96x5 96x2 96 48 (для подтверждения) 96 (для выявления)	24 месяца
ДС-ИФА-НВsAg –подтверждающий тест № ФСР 2008/03012 Набор реагентов для подтверждения специфичности результатов выявления НВsAg методом ИФА	I – 231	200	24 месяца
ДС-ЭРИТРО-НВsAg (комплекты 1,2,) № ФСР 2008/03883 Набор реагентов для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В при оценке динамики заболевания вирусным гепатитом В и контроле за проводимой терапией гепатита В	В - 431 В - 432	200 800	12 месяцев
ДС-ИФА-АНТИ-НВsAg CE ₀₄₈₃ № РЗН 2014/1821 Набор реагентов для качественного и количественного определения антител к поверхностному антигену вируса гепатита В методом ИФА в сыворотке или плазме крови человека. Набор диагностический <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	В-551	96 (48 колич. опред.)	18 месяцев
ДС-ИФА-АНТИ-НВс (комплекты 1,2) № ФСР 2008/03014 Тест-система иммуноферментная для выявления антител к core-антигену вируса гепатита В в сыворотке или плазме крови человека <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	В – 650 В – 653	96x2 96	12 месяцев
ДС-ИФА-АНТИ-НВс-М-СКРИН № ФСР 2008/03016 Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к core-антигену вируса гепатита В в сыворотке или плазме крови человека <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	В – 753	96	12 месяцев
ДС-ИФА-АНТИ-НВе № ФСР 2008/03020 Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к e-антигену вируса гепатита В (НВеAg) в сыворотке или плазме крови человека <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	В – 851	96	12 месяцев
ДС-ИФА-НВеAg № ФСР 2008/03015 Тест-система иммуноферментная для выявления e-антигена вируса гепатита В (НВеAg) в сыворотке или плазме крови человека <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	В – 951	96	12 месяцев
ДС-ВЛК-НВsAg № ФСР 2010/09795 Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие поверхностного антигена вируса гепатита В (НВsAg) при постановке ИФА	В - 1431	24 флакона по 0,5 мл	5 лет
ДС-СО-НВsAg № ФСР 2010/07216 Стандартный образец НВsAg для оценки чувствительности иммуноферментных тест-систем, выявляющих НВsAg, для контроля тест-систем на стадиях производства и выпуска, для научно-производственных целей, внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий, а также для количественного определения НВsAg в исследуемой сыворотке (плазме) крови человека методом ИФА	В - 0350	1 фл. – стандартн. образец 9 фл. – с отрицат. образцами	5 лет

Лабораторная диагностика гепатита С

Обрядина А.П., Бочкова Г.Б., Загрядская Ю.Е.

Участие НПО «Диагностические системы» в международных мероприятиях с оригинальными научными разработками в области лабораторной диагностики гепатита С

ООО «НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород

Гепатит С (ГС) является инфекционным заболеванием вирусной этиологии с преимущественным поражением печени, характеризующимся бессимптомным течением острой формы инфекции (70–90% случаев) и склонностью к развитию хронической формы (60–80% случаев) с возможным исходом в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК). Элиминация вируса из организма наблюдается у 20–40% инфицированных, у которых могут пожизненно выявляться иммуноглобулины класса G к вирусу гепатита С (анти-ВГС-IgG) У лиц с хронической инфекцией ВГС риск цирроза печени составляет 15–30% в пределах 20 лет [1].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) во всем мире хронической инфекцией ГС страдают 130–150 млн человек. Ежегодно от связанных с ГС болезней печени умирает примерно 700 тыс. человек [2].

В Российской Федерации в 2016 году заболеваемость острым гепатитом С (ОГС) снизилась в 17,5 раз (1,23 на 100 тыс. населения) по сравнению с 2000 годом (21,1). Снижение заболеваемости по сравнению с 2015 годом составило 14,6%. Снижение активности эпидемического процесса, проявляющегося острыми формами ГС, в Российской Федерации достигнуто благодаря широкому комплексу профилактических и противоэпидемических мероприятий. Наряду с этим, продолжают регистрироваться высокие уровни заболеваемости хроническим гепатитом С (ХГС), с тенденцией к снижению.

С 2010 года в Российской Федерации наблюдается медленное снижение регистрации заболеваемости ХГС. В 2016 году снижение заболеваемости ХГС по сравнению с 2010 годом составило 10,2% (2016 г. – 36,1 на 100 тыс. населения; 2010 г. – 40,2) [3].

Значительная изменчивость генетической структуры ВГС, многофакторность развития эпидемического процесса, особенности клинического течения, требуют постоянного совершенствования существующих и создания новых методов лабораторной диагностики данной инфекции. В связи с этим усилия многих отечественных и зарубежных исследователей направлены на поиск разнообразных методов лабораторной диагностики ВГС-инфекции.

На протяжении более двадцати лет приоритетными научными интересами сотрудников НПО «Диагностические системы» являются современные методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний, в том числе ГС, и их использование в различных исследованиях в зависимости от поставленных целей. Большим достижением многолетнего труда явились разработка, промышленный выпуск и внедрение в рутинную лабораторную практику целого

арсенала эффективных тест-систем на основе иммуноферментного анализа (ИФА) для диагностики ГС. Результаты своих исследований авторы активно представляли международному научному сообществу на различных конгрессах, симпозиумах и конференциях.

В настоящий обзор включены материалы собственных научных исследований специалистов компании «Диагностические системы» и в соавторстве с зарубежными и российскими коллегами по разным аспектам лабораторной диагностики ВГС-инфекции.

Совместная работа сотрудников НПО «Диагностические системы» и зарубежных коллег была посвящена выявлению антигенных детерминант нативных белков ВГС с использованием моноклональных антител (МКА) к рекомбинантным белкам NS3 и NS4 [4].

Взаимодействие МКА с белками ВГС оценивали путем иммуногистохимического окрашивания криостатных срезов ткани печени, полученных путем биопсии от 14 пациентов с ХГС. Вирусную РНК (РНК ВГС) детектировали при помощи метода «гнездовой» полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией («гнездовая» ОТ-ПЦР).

Результаты проведенного исследования показали следующее. Семь МКА выявляли геликазный домен белка NS3 ВГС, по крайней мере, четыре его отдельных эпитопа, три из которых конформационные (СЕ) и один линейный (LE). Шесть антител к NS4 белку распознавали 5 эпитопов, 2 из которых принадлежали иммунодоминантному региону CE 5-1-1 и три к NS4A и NS4B LE. МКА выявили 5 ранее неизвестных эпитопов NS3 и NS4. Белки ВГС были обнаружены только в цитоплазме гепатоцитов. Количество гепатоцитов, окрашенных с использованием МКА различной специфичности, существенно различалось. МКА 6B11 к NS4 ВГС CE выявлены у всех пациентов, с обнаруженной РНК ВГС в клетках печени. В ходе исследования не установлено связи между способностью МКА распознавать белки ВГС в инфицированных гепатоцитах и их аффинностью к NS3 и NS4. МКА к NS3 LE не обнаружили этого белка в печени, при этом МКА к двум белкам NS3 CE были интенсивно окрашены в инфицированных гепатоцитах. Было показано, что соотношение NS4A и NS4B варьирует в гепатоцитах пациентов с ХГС различной степени тяжести.

В заключение авторы сделали вывод о том, что взаимодействие МКА с белками в ВГС-инфицированных клетках определяется в большей степени специфичностью эпитопа и экспозицией соответствующего В-клеточного эпитопа, чем аффинностью к белкам NS3 и NS4. Панель полученных МКА может служить эффективным инструментом

для диагностических целей, а также для изучения взаимодействий «хозяин-вирус» на клеточном уровне у пациентов с ХГС различной степени тяжести [4].

Ряд работ посвящен изучению антигенных свойств белков ВГС и оценке диагностической значимости их определения. Результаты этих исследований были опубликованы в материалах различных международных научно-практических мероприятий [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 24, 25].

Одна из работ этого периода была посвящена исследованию иммунодоминантных регионов белка NS3 ВГС [10]. Антигенный состав белка NS3 ВГС исследовали при помощи 23 перекрывающихся фрагментов – продуктов ПЦР, полученных из гена NS3 ВГС. Каждый ПЦР-фрагмент кодировал участок протяженностью около 100 аминокислотных остатков (а.о.) белка NS3. Все фрагменты клонировали и экспрессировали в клетках *E. coli* в виде гибридных белков с глутатион-S-трансферазой.

Иммунореактивность этих белков определяли с использованием панели образцов сывороток крови, содержащих ($n=134$) и не содержащих антитела к ВГС ($n=50$). Анти-ВГС-позитивные образцы сывороток крови были получены от пациентов, инфицированных ВГС разных генотипов.

В своей работе исследователи определяли иммунореактивность 8 рекомбинантных белков, содержащих эпитопы ВГС, локализованные в пределах 1193-1300, 1221-1325, 1261-1367, 1295-1403, 1319-1426, 1340-1441, 1357-1459, и 1375-1494 а.о. С использованием двух из этих белков, содержащих аминокислотные последовательности, локализованные в пределах 1221-1325 а.о. (с11) и 1357-1459 а.о. (с16), были детектированы антитела в 78% и 87% анти-ВГС позитивных образцов сывороток крови, соответственно.

Все анти-ВГС - позитивные образцы сывороток крови содержали антитела, по крайней мере, к одному из этих двух белков. С использованием синтетических генов были получены 3 варианта рекомбинантных белков - антигены с11, с16 и с33 (1192-1456 а.о.), соответствующие различным генотипам ВГС. Исследование при помощи иммуноферментного анализа показало, что сочетание антигенов с11 и с16 блокирует эффективное связывание антител с антигеном с33. Это свидетельствует о том, что антигены с11 и с16 снижают функциональную активность рекомбинантного антигена с33 ВГС.

Результаты данного исследования позволили авторам предположить, что белок NS3 ВГС содержит два иммунодоминантных региона, локализованных в пределах 1221-1325 и 1357-1459 а.о. [10].

Другое исследование было посвящено изучению антигенной вариабельности core белка ВГС [11]. Хорошо известно, что первичная структура core белка ВГС, является одной из консервативных областей вируса. Однако существуют значительные различия в антигенных свойствах этого белка, полученного от разных изолятов ВГС. Генетическая гетерогенность core белка влияет на эффективность детекции антител в образцах сывороток крови, содержащих ВГС различных генотипов.

Для изучения влияния гетерогенности аминокислотной последовательности на антигенные свойства core белка,

из 266 последовательностей, полученных из GenBank, авторами были выбраны 13 различных аминокислотных последовательностей, охватывающих основные антигенные эпитопы, локализованные в пределах 2-120 аминокислот (АК). Эти последовательности были выбраны на основе (1) эволюционных дистанций между последовательностями значительной длины и (2) представительства ВГС всех 6 генотипов. Аминокислотные последовательности были преобразованы в нуклеотидные последовательности, и соответствующие рекомбинантные гены собирали при помощи ПЦР из синтетических олигонуклеотидов, клонировали и экспрессировали в клетках *E. coli* в виде гибридных белков с глутатион-S-трансферазой. Все 13 очищенных белков ВГС были протестированы с использованием панели образцов сывороток крови, содержащих антитела к ВГС ($n=98$), полученных от пациентов, инфицированных ВГС всех 6 генотипов. Каждый очищенный белок продемонстрировал высокую иммунореактивность.

Исследователи отметили, что несмотря на то, что у всех белков наблюдалась вариабельность генотип - специфической антигенной реактивности, только два белка демонстрировали значительное повышение уровня иммунореактивности с ВГС гомологичного генотипа, тогда как некоторые близкородственные белки, полученные из ВГС того же субтипа или генотипа, демонстрировали вариабельную иммунореактивность при исследовании образцов сывороток крови пациентов, инфицированных ВГС разных генотипов.

Было показано, что изменение первичной структуры оказывает существенное влияние на антигенные свойства core белка ВГС.

Позднее эта же группа авторов представила результаты еще нескольких работ, посвященных изучению влияния гетерогенности аминокислотной последовательности белков NS4 и NS5 ВГС на эффективность детекции антител к ВГС [24, 25].

В целом, результаты аналоговых исследований в данном направлении показали, что гетерогенность первичной структуры оказывает существенное влияние на антигенные свойства рекомбинантных белков ВГС. Это обстоятельство, по мнению авторов работы, необходимо учитывать при выборе компонентов при создании высокочувствительных и специфичных диагностических тест-систем, предназначенных для выявления антител к ВГС в образцах сывороток крови [10, 11, 24, 25].

Одна из проблем ИФА-диагностики ГС связана с верификацией надежности результатов ИФА при скрининге. При исследовании образцов сывороток крови пациентов с сочетанной инфекцией (или коинфекцией), вызванной ВГС и возбудителями оппортунистических инфекций, могут быть получены нетипичные результаты серологических тестов.

Авторский коллектив НПО «Диагностические системы» провел исследование для определения профиля антител в образцах сывороток крови, полученных от пациентов с коинфекцией, вызванной ВГС и возбудителями TORCH-инфекций [13].

Исследовали образцы сывороток крови пациентов с коинфекцией для определения профиля антител к ВГС

и к возбудителям TORCH-инфекций. Анти-ВГС-положительные образцы сывороток крови ($n=162$) исследовали дополнительно на наличие IgG, IgM, IgA к *Toxoplasma gondii* и *Chlamydia trachomatis*; IgG к ВПГ-1 и ВПГ-2, IgG, IgM к ЦМВ и IgG, IgM к VCA (капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр, ВЭБ), к EA (раннему антигену ВЭБ), к EBNA (нуклеарному антигену ВЭБ). В контрольную группу были включены образцы сывороток здоровых доноров крови, не содержащие антител к ВГС ($n=247$). Полученные данные обрабатывали с использованием статистических методов.

В ходе исследования было показано, что анти-Токсо IgG в анти-ВГС-положительных образцах сывороток встречаются в два раза реже, чем в образцах сывороток здоровых доноров ($p>0,995$). Помимо этого отмечено, что в образцах сывороток с наличием антител ко всем белкам ВГС или антител к трем белкам ВГС (core, NS3 и NS4) анти-IgG к ВПГ-1 и ВПГ-2 определялись в низких концентрациях ($p>0,966$). Кроме того, было выявлено, что в образцах сывороток крови, содержащих антитела только к структурным белкам ВГС или же к структурным белкам в комбинации с анти-NS4 ВГС, выявлено снижение содержания антител к VCA ВЭБ вдвое ($p>0,95$). В образцах сывороток крови, содержащих антитела к core белку в сочетании с NS4 ВГС, концентрация антител к EBNA ВЭБ была, напротив, вдвое выше чем в донорской группе ($p>0,902$). В образцах сывороток крови, содержащих только антитела к белку NS3 ВГС, частота встречаемости IgA к *S. trachomatis* составляла 45%, IgG к *S. trachomatis* - 31%. Комбинация анти-NS3 с анти-core или только антитела к неструктурным антигенам, наблюдались в 55% образцов с анти-IgA и в 69% образцов с анти-IgG к *S. trachomatis* ($p>0,995$). Других статистически значимых корреляций не выявлено.

По результатам данного исследования авторы обнаружили, что при коинфекции ВГС/TORCH существует взаимное влияние ВГС и возбудителей оппортунистических инфекций. В образцах сывороток крови от пациентов с коинфекцией ВГС/TORCH очень часто не определяется полный спектр антител к ВГС. Исследование может быть полезным для рутинной лабораторной практики при обследовании указанной категории больных [13].

В продолжение предыдущего авторы провели новое исследование по оценке антительного иммунного ответа к ВГС и цитомегаловирусу (ЦМВ) при коинфекции ВГС и ЦМВ [14].

Исследовали две группы образцов: анти-ВГС положительные образцы сывороток крови ($n=162$), полученные от пациентов с острой и хронической инфекцией, и анти-ВГС-негативные образцы сывороток крови от здоровых доноров крови ($n=247$). Все образцы дополнительно исследовали на наличие IgG к ЦМВ (анти-ЦМВ IgG). В целом уровень антительного ответа к ЦМВ в образцах сывороток крови пациентов с коинфекцией ВГС/ЦМВ с различной анти-ВГС реактивностью, как правило, был ниже (на 10-20%), чем в образцах сывороток крови здоровых доноров крови, но это различие было статистически незначимым. В образцах сывороток крови пациентов с коинфекцией ВГС/ЦМВ, содержащих только анти-NS3, частота выявления антител к ЦМВ была в 1,42 раза ниже, чем в образцах сывороток крови контрольной группы ($t=2,74$; $p>0,99$). Выявление

только анти-NS3 ВГС может свидетельствовать о ранней стадии ВГС-инфекции. Существует корреляционная связь между наличием антител только к NS3 белку ВГС и вирусемией ВГС.

Полученные данные позволяют предположить, что антительный иммунный ответ к ЦМВ может быть подавлен при коинфекции ВГС/ЦМВ, особенно в период активной репликации ВГС в крови [14].

Многие собственные научные исследования специалисты НПО «Диагностические системы» провели при создании новых ИФА тест-систем, предназначенных для определения маркеров инфицирования ВГС, а также с целью оценки их диагностических возможностей. Материалы этих исследований также были широко представлены на международном уровне [12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 26].

Так, коллективом авторов компании были описаны исследования, проводившиеся при создании ИФА тест-системы для определения антител к ВГС «ИФА-АНТИ-HCV», сконструированной на основе рекомбинантных антигенов, содержащих только диагностически значимые регионы различных вариантов нативных белков ВГС.

Несколько работ было посвящено оценке диагностических и аналитических характеристик указанной тест-системы [12, 20].

В ходе исследования различные последовательности рекомбинантных антигенов ВГС, включающих core, NS3, NS4, NS5 сорбировали на поверхности лунок полистиролового планшета. Диагностическую эффективность тест-системы изучали при исследовании 1004 анти-ВГС-положительных образцов сывороток крови пациентов с подтвержденным диагнозом ГС, в том числе 338 образцов сывороток крови, содержащих антитела к ВГС разных генотипов от 1 до 6 (76 образцов – к ВГС генотипа 1; 51 образец – к ВГС генотипа 2; 38 образцов – к ВГС генотипа 3; 25 образцов – к ВГС генотипа 4; 5 образцов – к ВГС генотипа 5; 8 образцов – к ВГС генотипа 6), образцов сывороток крови 31 коммерческих сероконверсионных панелей (BBI Inc., ZeptoMetrix) и образцов сывороток панели «Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel BBI PHV 206» (BBI Inc.). Для оценки клинической эффективности исследовали образцы сывороток крови пациентов с острым ($n=30$) и хроническим ($n=439$) ГС. Диагностическую специфичность определяли при исследовании образцов сывороток крови здоровых доноров крови ($n=8107$), клинических пациентов ($n=1225$), беременных женщин ($n=735$) и больных хроническим вирусным гепатитом В ($n=600$).

При тестировании с использованием тест-системы «ИФА-АНТИ-HCV» образцов сывороток крови 31 сероконверсионных панелей получен 101 положительный результат из 259 (40%). При исследовании образцов сывороток крови из панели «Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel BBI PHV 206» выявлено 23 положительных и 2 негативных результата. При проведении сравнительного анализа значений коэффициента позитивности (КП), полученных при исследовании, с паспортными данными панелей было установлено, что этот показатель в большинстве положительных результатов был выше, чем в паспортных данных панелей. Диагностическая чувствительность тест-системы «ИФА-АНТИ-HCV» при исследовании анти-ВГС положительных образцов

с клиническим диагнозом острого и хронического ГС составила 100%. Чувствительность тест-системы при исследовании образцов сывороток крови, содержащих антитела к ВГС различных генотипов, составила 100%. Продемонстрирована также высокая специфичность набора «ИФА-АНТИ-НСV».

Результаты данного исследования свидетельствуют о высокой диагностической эффективности и специфичности разработанной тест-системы.

В материалах международных симпозиумов и конгрессов по вирусным гепатитам также опубликованы результаты исследований по оценке диагностической значимости разработанной в компании ИФА тест-системы «ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-М», предназначенной для идентификации спектра IgM к разным антигенам ВГС [15, 17].

В одной из работ рекомбинантные антигены, аналогичные core, NS3, NS4, NS5 белкам ВГС, были отдельно сорбированы на стрипах полистиролового планшета. Диагностическую значимость тест-системы изучали при исследовании 205 образцов сывороток крови, содержащих антитела к ВГС генотипов 1-6; образцов сывороток крови из 18 коммерческих сероконверсионных панелей (VBI Inc., ZeptoMetrix), образцов сывороток крови панели Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel VBI PHV 206 (VBI Inc.), 190 образцов сывороток крови младенцев, родившихся от ВГС-инфицированных матерей (исследовали в динамике), образцов сывороток крови пациентов с диагнозом ОГС ($n=35$) и ХГС ($n=439$). Диагностическую специфичность определяли при исследовании образцов сывороток крови здоровых доноров ($n=1657$), клинических пациентов ($n=1278$) и беременных женщин ($n=887$).

В ходе исследования с использованием тест-системы «ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-М» авторами было выявлено, что в 86,3% анти-IgG позитивных образцов сывороток крови, полученных от пациентов с ОГС и ХГС, обнаружены IgM к одному или нескольким антигенам вируса. Установлена хорошая корреляция между выявлением анти-ВГС IgM и РНК ВГС. В 95,3% образцов сывороток крови с известным генотипом ВГС были обнаружены антитела класса М. Более ранняя сероконверсия IgM по сравнению с IgG к антигенам ВГС выявлена в образцах сывороток крови двух панелей VBI 908 и VBI 916(М). Первыми обнаружены IgM к NS4 ВГС. В образцах сывороток 11 панелей IgG были обнаружены раньше, чем IgM. В образцах остальных 5 панелей IgG были обнаружены одновременно с IgM. В более 90% образцов сывороток крови пациентов с ХГС детектированы IgM к нескольким антигенам ВГС. В 80% образцов сывороток крови пациентов с ХГС обнаружены IgM к трем или четырем антигенам ВГС. Во всех образцах сывороток крови младенцев в возрасте 3-5 месяцев с диагнозом ОГС были детектированы только анти-core IgM или анти-NS3 IgM и РНК ВГС. Значительное увеличение анти-core IgM, наблюдавшееся к 9-10 месяцу жизни и анти-NS IgM — к 9-18 месяцу жизни детей, может свидетельствовать о развитии хронической стадии инфекции. Исследование также показало высокую специфичность тест-системы «ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-М».

Авторы работы отметили, что обнаружение IgM к разным антигенам ВГС имеет большое значение для доказательства перинатальной передачи вируса и может использоваться в

качестве прогностического маркера персистирующей ВГС-инфекции [17].

В связи с практической необходимостью совершенствования лабораторной диагностики ГС существенно расширился круг научных и производственных интересов компании.

Была разработана тест-система «ДС-ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-ГМ», предназначенная для выявления спектра антител классов G и M (IgG и IgM) к структурным и неструктурным белкам ВГС и подтверждения результатов скрининга на наличие антител к ВГС (анти-ВГС) в сыворотке или плазме крови человека [19]. При создании диагностикума использовали выбранные рекомбинантные антигены, которые содержали только диагностически значимые последовательности различных вариантов нативных белков ВГС разных генотипов. В ходе исследования оценивали аналитические характеристики тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-ГМ» для использования в качестве дополнительного теста для подтверждения положительных результатов скрининга на анти-ВГС.

Различные последовательности рекомбинантных антигенов ВГС, включающие core, NS3, NS4, NS5 были отдельно сорбированы в лунках полистиролового планшета. Диагностическую значимость изучали при исследовании 1004 анти-ВГС-позитивных образцов сывороток крови, полученных от пациентов с подтвержденным диагнозом ГС, в том числе 338 образцов сывороток крови, содержащих антитела к вирусу генотипов 1-6; а также образцов сывороток крови из 18 коммерческих сероконверсионных панелей (VBI Inc., ZeptoMetrix) и образцов сывороток крови из панели «Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel VBI PHV 206» (VBI Inc.). Дополнительно, для оценки клинической эффективности исследовали образцы сывороток крови пациентов с установленным диагнозом ОГС ($n=30$) и ХГС ($n=439$). Диагностическую специфичность оценивали на основании результатов исследования образцов сывороток крови здоровых доноров крови ($n=1657$), клинических пациентов ($n=1225$) и беременных женщин ($n=887$).

При исследовании 127 образцов сывороток крови из 18 сероконверсионных панелей с использованием тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-ГМ» положительный результат показали 50 образцов сывороток (39,4%), неопределенный результат - 22 образца сывороток (17,3%). Тест-система сравнения (иммуоблот «DECISCAN HCV Plus», Bio-Rad) детектировала 35 (27,56%) образцов сывороток сероконверсионных панелей как положительные, а 37 (29,13%) образцов — как неопределенные. В 21 образце сывороток крови с неопределенным результатом была обнаружена РНК ВГС. При исследовании анти-ВГС позитивных образцов сывороток крови, полученных от пациентов с острым и хроническим ГС, и образцов сывороток крови, содержащих антитела к ВГС различных генотипов, диагностическая чувствительность новой тест-системы составила 100%. Все образцы сывороток крови из панели «Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel VBI PHV 206», протестированные при помощи «ДС-ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-ГМ», показали результат в соответствии с паспортными данными панели. В ходе исследования было также установлено, что разработанная тест-система «ДС-ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-ГМ» обладает высокой специфичностью.

Авторами данного исследования было показано, что оптимальный подбор наиболее иммунореактивных эпитопов белков ВГС разных генотипов, используемых в данной тест-системе, позволит значительно сократить количество неопределенных результатов и повысить надежность диагностики ГС [19].

На международном уровне творческий коллектив компании представил и ряд исследований, посвященных определению индекса авидности (ИА) у пациентов, инфицированных ВГС [21, 22, 23].

Авидность антител – показатель, используемый в серологических исследованиях, позволяющий подтвердить или исключить факт первичного инфицирования, и определение авидности антител является надежным методом исследования для проведения дифференциальной диагностики между острой и хронической стадиями инфекции, вызванной ВГС. Однако при проведении исследований с применением теста на авидность был обнаружен ряд ограничений.

В связи с этим авторы провели исследование по выявлению корреляционной зависимости между величиной ИА и уровнем РНК ВГС в крови обследуемых [21].

Исследовали 220 образцов сывороток крови из 21 коммерческой сероконверсионной панели, 480 образцов анти-ВГС и РНК ВГС-позитивных образцов сывороток крови доноров и 21 анти-ВГС-позитивный, но РНК ВГС-негативный образец сывороток донорской крови. Определение авидности антител проводили при помощи непрямого ИФА с использованием смеси антигенов, содержащих эпитопы core-1b, NS3-1a и 1b, и NS4 (искусственный мозаичный антиген NS4, содержащий иммунодоминантные регионы для ВГС 1, 2, 3, 5 генотипов).

Среднее значение ИА при исследовании образцов сывороток крови сероконверсионных панелей, полученных до 65 дня сероконверсии анти-ВГС, составило 18,6% (95% ДИ, 3,5-33,7%). Среднее значение ИА при исследовании анти-ВГС и РНК ВГС-позитивных образцов сывороток крови пациентов с хронической ВГС-инфекцией составило 100% (95% ДИ, 83,1 - 116,9%). При исследовании образцов сывороток крови пациентов с перенесенной инфекцией среднее значение ИА составило 54% (95% ДИ, 32,8 - 75%). Выявленные различия оказались статистически значимыми ($p < 0,001$).

У пациентов с высоким уровнем РНК ВГС в крови, выявленным при помощи ПЦР, отмечено увеличение ИА в течение более короткого промежутка времени, чем у пациентов с низким уровнем РНК ВГС. Лучшая корреляция между величиной ИА и временным интервалом после заражения отмечена у пациентов с концентрацией РНК ВГС в крови более 1000 копий/мл: $y = 0,83x + 1,5$ против $y = 0,3x + 31$ для пациентов с концентрацией РНК ВГС 10-100 копий/мл или $p = 0,08x + 49$ для пациентов с концентрацией РНК ВГС в крови менее 1000 копий.

Авторы установили корреляционную связь между величиной ИА и ПЦР-статусом пациента. Основным выводом проведенного исследования стало утверждение, что у лиц с низким уровнем вирусемии или негативными результатами ПЦР (перенесенная инфекция) низкие значения ИА могут регистрироваться на протяжении достаточно продолжительного периода времени, и тест на авидность антител может

оказаться более надежным при исследовании позитивных в ПЦР образцов сывороток крови с высоким уровнем вирусной нагрузки [21].

В дальнейшем работа по оценке определения ИА для диагностики ГС была продолжена. Было отмечено, что традиционная диагностика первичной инфекции, вызванной ВГС, основана на сочетании данных эпидемиологической оценки факторов риска, результатов скрининга активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и определения антител к ВГС в сыворотке крови. Альтернативным методом для разграничения ОГС и ХГС является метод определения авидности IgG: с течением времени, прошедшим с момента инфицирования, авидность антител возрастает. В своем исследовании авторы изучали корреляцию между профилем IgG к ВГС и величиной ИА IgG к ВГС [22].

Для определения профиля IgG к ВГС использовали различные последовательности рекомбинантных антигенов ВГС, включающих core, NS3, NS4, и NS5, которые были раздельно сорбированы в лунках полистиролового планшета. Определяли ИА IgG к ВГС с использованием данного иммуносорбента. Исследовали образцы сывороток крови пациентов с ОГС ($n=78$) и ХГС ($n=603$), 190 образцов сывороток крови детей, рожденных матерями, инфицированными ВГС (исследовали в динамике).

Результаты показали, что величина ИА определена значительно ниже при исследовании образцов сывороток крови из группы ОГС ($15 \pm 5\%$), чем из группы ХГС ($82 \pm 16\%$). В 95% низкоавидных образцов сывороток крови детектированы IgG только к одному антигену: анти-NS3 обнаружены в 71%, анти-core – в 23% и анти-NS4 – в 1% образцов. В группе низкоавидных образцов антитела к NS5 не выявлены. В большинстве низкоавидных образцов сывороток крови (68%) средний уровень ИА составил 1,2-5,0 и лишь в 14% низкоавидных образцов среднее значение ИА составило более 10,0. В 87% высокоавидных образцов сывороток крови определены IgG к двум и более антигенам вируса, а в 13% образцов – детектированы IgG только к одному антигену. В 95% высокоавидных образцов сывороток значение КП составило $>10, 0$. У 94,2% детей в возрасте до 18 месяцев, родившихся от ВГС-инфицированных матерей, обнаруживались только материнские высокоавидные IgG к ВГС, которые не детектировались после достижения детьми возраста 18 месяцев. В этой группе анти-ВГС IgM и РНК ВГС обнаружены не были. ОГС была диагностирована у 11 новорожденных (5,8%). Во всех образцах сывороток крови детей с ОГС в возрасте 3-5 месяцев выявлены только анти-core IgM или анти-NS3 IgM наряду с РНК ВГС. Увеличение титров анти-core IgM и анти-NS IgM наблюдалось у детей в возрасте 9 -18 месяцев и указывало на развитие ХГС. Уровень ИА в образцах сывороток крови новорожденных детей с перинатально приобретенной ВГС-инфекцией был высоким (80 -100%) в течение всего периода наблюдения. Таким образом, динамическое наблюдение за профилем антител к разным антигенам ВГС у детей младшего возраста имеет большее диагностическое значение, чем определение ИА.

В заключение авторы пришли к выводу, что определение величины ИА и профиля IgG к ВГС может быть полезным для разграничения ОГС и ХГС у взрослых пациентов. Для диагностики первичной ВГС-инфекции у детей, родившихся от

матерей с положительной реакцией на ВГС, более надежным является определение профиля IgM к ВГС [22].

Одним из важнейших направлений в данной области стало исследование по оценке ИА при исследовании образцов донорской крови с неопределенными результатами выявления антител к ВГС [23].

Авторы констатировали, что интерпретация «неопределенных» результатов выявления антител к ВГС при исследовании образцов сывороток крови остается одной из главных задач диагностики ГС. Обнаружение антител к ВГС у доноров крови является основанием для отстранения от донорства. Изучение характеристик «неопределенных» результатов серологических исследований поможет оптимизировать процедуру анализа и содействовать развитию донорства.

Свое исследование авторы проводили с использованием 636 образцов плазм крови, содержащих антитела к ВГС. Профиль антител класса G (IgG) был определен для всех образцов. Восемь рекомбинантных антигенов ВГС (core, NS4, NS5 и 5 NS3 ВГС разных генотипов) раздельно сорбировали в лунках полистиролового планшета, за исключением рекомбинантных белков NS3 – их сорбировали в виде смеси. Авидность антител определяли при помощи непрямого ИФА с использованием вышеупомянутых рекомбинантных антигенов. В ходе выполнения анализа использовали денатурирующий агент (8М раствор мочевины) и физиологический раствор (0,85% NaCl). Индекс avidности антител испытуемых образцов рассчитывали как отношение величины оптической плотности (ОП) в лунках с антигенами, полученной после обработки денатурирующим агентом к величине ОП, полученной после обработки раствором сравнения, выраженное в процентах.

Исследовали 169 образцов плазм крови, содержащих антитела к определенным антигенам ВГС (Рис. 1).

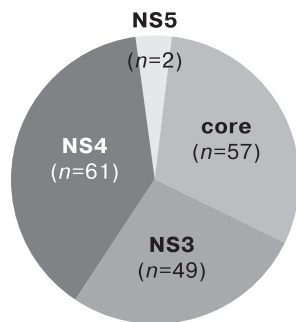


Рис. 1. Профиль IgG в образцах плазмы крови, содержащих антитела к отдельным антигенам ВГС.

Индекс avidности для образцов плазм крови, содержащих IgG к отдельным антигенам ВГС (core, NS3, NS4, NS5)

	core		NS3		NS4		NS5	
	Количество образцов (n=169) и уровень ИА							
	Низкий ИА	Высокий ИА	Низкий ИА	Высокий ИА	Низкий ИА	Высокий ИА	Низкий ИА	Высокий ИА
КП > 6,0	23	2	16	0	18	0	0	0
	25		16		18		0	
КП < 6,0	32	0	33	0	43	0	2	0
	32		33		43		2	

Все образцы условно разделили на две группы по величине коэффициента позитивности: КП>6,0 и КП<6,0. ИА рассчитывали для обеих групп образцов (табл. 1).

Таблица 1

Индекс avidности для образцов плазм крови, содержащих IgG к антигенам ВГС (сводные данные)

	Количество образцов (n=169) и уровень ИА	
	Низкий ИА	Высокий ИА
КП > 6,0	57	2
	59	
КП < 6,0	110	0
	110	

Во всех образцах обнаружена практически одинаковая частота выявления антител к core, NS3 и NS4 белкам, но не к антигену NS5 ВГС. Сто шестьдесят семь (98,8 %) из 169 образцов с реактивностью к отдельным антигенам ВГС были оценены как образцы с низким уровнем ИА (группа «низкий ИА»). Средняя величина ИА в группе «низкий ИА» составила 4% (95% ДИ: 3,3-5,0%). Сто десять (100%) образцов с КП < 6,0 и 57 (96,6%) образцов с КП > 6,0 определены как низкоавидные. Среди образцов плазм крови с неопределенным результатом на анти-ВГС были обнаружены два образца с КП > 6,0 и высоким значением ИА (группа «высокий ИА»), при их исследовании детектированы антитела к core антигену вируса. Результаты определения КП, ИА и реактивности анти-ВГС представлены в табл. 2.

Неопределенный результат исследования на анти-ВГС образцов с высоким ИА может свидетельствовать об остаточных антителах после перенесенной ВГС-инфекции. Низкий ИА может быть свидетельством первичной инфекции, или неспецифической реактивности организма. Для уточнения статуса образцов с неопределенным результатом исследования на антитела к ВГС необходимо выявлять РНК ВГС (при помощи ПЦР).

По мнению авторов, определение ИА может быть одним из дополнительных методов исследования образцов, содержащих антитела к ВГС. При получении неопределенных результатов детекции антител к ВГС необходимо проведение дальнейших исследований, что может оказаться полезным при решении вопросов, связанных с обеспечением безопасности донорской крови [23].

Таблица 2

В дальнейшем, специально для службы крови с целью улучшения лабораторной диаг-ностики ГС, специалистами компании «Диагностические системы» была разработана тест-система на основе ИФА для одновременного обнаружения core-антигена и антител к ВГС. Проведено исследование по выявлению корреляции между уровнем вирусной нагрузки и КП в комбинированной ИФА тест-системе в период серонегативного окна ВГС-инфекции [26].

В тест-системе «ДС-ИФА-НСV-АГАТ» были протестированы 28 образцов сывороток крови 6 коммерческих сероконверсионных панелей (Zeptomatrix, США; 6213, 9041, 9044, 9045, 9047, 10062). Все исследуемые образцы были получены в период серонегативного окна ВГС-инфекции. Вирусную нагрузку определяли методом «разветвленной» ДНК (bDNA) (паспортные данные панелей).

В процессе исследования 25 из 28 образцов сывороток крови демонстрировали реактивность в комбинированной тест-системе «ДС-ИФА-НСV-АГАТ». Взаимосвязь между уровнем вирусной нагрузки и значением КП в тест-системе «ДС-ИФА-НСV-АГАТ» показана на рис. 2. Наиболее подходящее экспоненциальное распределение отмечено при $R^2=0,90$. Анализ кривой регрессии для КП (cut-off) в тест-системе «ДС-ИФА-НСV-АГАТ» и уровня вирусной нагрузки (Ln bDNA) показал, что cut-off в тест-системе «ДС-ИФА-НСV-АГАТ» соответствует концентрации 1,09 МЕ/мл в тесте ВГС bDNA.

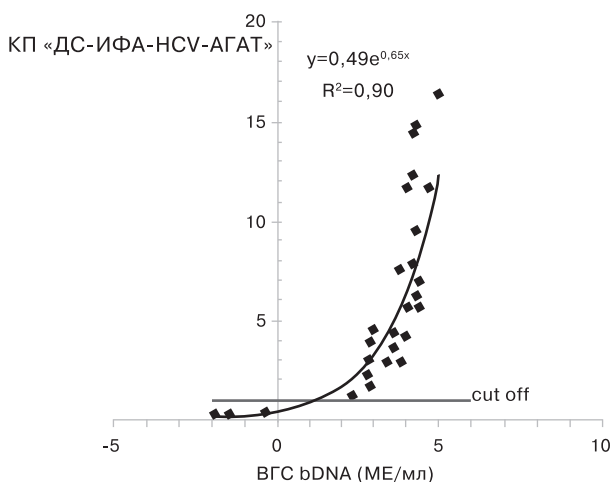


Рис. 2. Взаимосвязь между уровнем вирусной нагрузки и значением коэффициента позитивности (КП) в тест-системе «ДС-ИФА-НСV-АГАТ».

Результаты данного исследования показали, что выявление core-антигена ВГС в сыворотке крови в период серонегативного окна ВГС-инфекции коррелирует с уровнем РНК ВГС в сыворотке крови, определенным при помощи метода bDNA. Поэтому комбинированная тест-система «ДС-ИФА-НСV-АГАТ» может быть рекомендована в качестве альтернативы обнаружению РНК ВГС при проведении диагностических или скрининговых исследований, так как NAT-технологии пока не получили широкого распространения [26].

Коллектив авторов НПО «Диагностические системы» провел также оригинальное исследование по изучению иммунного ответа специфических иммуноглобулинов IgG подклассов IgG1 и IgG3 к различным антигенам ВГС [27].

С этой целью исследовали образцы сывороток крови (n=22) девяти коммерческих серо-конверсионных панелей (производства компаний SeraCare Life Sciences и Zeptomatrix, США). Сероконверсионные панели содержали образцы сывороток крови больных с хронической ВГС-инфекцией, полученные в период сероконверсии (в течение от 10 до 76 дней после получения первого образца сыворотки крови согласно паспортным данным панелей). Наряду с этим авторы исследовали 29 образцов сывороток крови пациентов с хронической ВГС-инфекцией из инфекционных больниц г. Нижнего Новгорода, Россия. В качестве антигенов использовали очищенные рекомбинантные белки ВГС - core, NS3, NS4, NS5 (кат. АНСV111; АНСV207; АНСV201; АНСV401; НПО «Диагностические системы»). Использовали моноклональные антитела меченые пероксидазой хрена (HRP) к IgG человека подклассов IgG1 (Zymed Laboratories) и IgG3 (GenWay Biotech).

Результаты данного исследования, касающиеся распределения ВГС-специфических IgG субклассов IgG1 и IgG3 в исследуемых группах, приведены в табл. 3.

Специфические IgG подклассов IgG1 и IgG3 к core-ВГС были обнаружены в 68% образцов сывороток крови пациентов с ОГС и в 69% образцов сывороток крови пациентов с ХГС. Одновременно IgG1+ IgG3 к NS3 ВГС были выявлены в 77% образцов сывороток сероконверсионных панелей и в 48% образцов сывороток крови пациентов с ХГС. С примерно одинаковой частотой авторы детектировали одновременно анти-NS4 IgG1 и IgG3 в сравниваемых группах – 27% и 24%. В обнаружении анти-NS5 IgG обоих подклассов значимая разница (p=0,015) наблюдалась на ранних и поздних стадиях

Таблица 3.

Распределение ВГС-специфических IgG субклассов IgG1 и IgG3 в исследуемых группах.

		Острая ВГС-инфекция		Хроническая ВГС-инфекция		Точный критерий Фишера
		Число	Процент	Число	Процент	
анти-core	IgG1	15/22	68%	29/29	100%	p=0,001
	IgG3	19/22	86%	20/29	69%	p=0,192
	IgG1+ IgG3	15/22	68%	20/29	69%	p=1,000
анти-NS3	IgG1	17/22	77%	26/29	90%	p=0,268
	IgG3	20/22	91%	14/29	48%	p=0,002
	IgG1+ IgG3	17/22	77%	14/29	48%	p=0,046
анти-NS4	IgG1	5/22	23%	20/29	69%	p=0,002
	IgG3	9/22	41%	10/29	35%	p=0,772
	IgG1+ IgG3	6/22	27%	7/29	24%	p=1,000
анти-NS5	IgG1	0/22	-	15/29	52%	-
	IgG3	2/22	9%	14/29	48%	p=0,005
	IgG1+ IgG3	1/22	5%	10/29	35%	p=0,015

инфекции. Не выявлено статистически значимой разницы в частоте детекции анти-core и анти-NS4 IgG3 в исследуемых группах. Анти-NS3 IgG3 – положительный ответ наблюдался в 91% образцов сывороток крови пациентов с острой стадией инфекции, в то время как при хронической стадии эти антитела обнаружены в 48% образцов сывороток крови ($p=0,002$). В отличие IgG3 к NS3, анти-NS5 IgG3 чаще выявляли в образцах сывороток крови больных с хронической (48%), чем с острой (9%) ВГС-инфекцией. Иммуноглобулины подкласса IgG1 к core и NS4 белкам ВГС чаще выявляли в образцах сывороток крови пациентов с хронической, чем с острой инфекцией. Не обнаружено статистически значимой разницы в выявлении анти-NS3 IgG1 в исследуемых группах образцов сывороток.

В заключение исследователи акцентировали, что обнаружена значительная разница между детекцией IgG подклассов IgG1 и IgG3 на острой и хронической стадиях ВГС-инфекции, продемонстрировавших специфический иммунный ответ к отдельным белкам вируса. По мнению авторов, полученные результаты могут быть полезными при разработке диагностических тест-систем, позволяющих определять раннюю стадию инфекции [27].

Точность диагностики ГС имеет первостепенное значение, поскольку ошибочный диагноз может привести к психологической травме, к увеличению распространенности ВГС-инфекции, необходимости проведения дополнительных исследований и к удорожанию диагностики в целом. В связи с этим, одной из наиболее значимых проблем при проведении исследований крови человека на ГС является регистрация ЛПР,

которые усложняют лабораторную диагностику данной инфекции. Причиной ложноположительной реактивности могут быть перекрестные реакции с антителами против других вирусов и патогенов.

Одно из недавних исследований, проведенных специалистами НПО «Диагностические системы», посвящено идентификации районов core – антигена ВГС, ответственных за формирование ложноположительных реакций (ЛПР) [28].

Авторы, подчеркивают, что core протеин ВГС является одним из основных иммунореактивных белков вируса. В диагностических тест-системах, предназначенных для выявления антител к ВГС, в качестве core-антигена ВГС используют рекомбинантный антиген или синтетический пептид(ы).

В своей работе для определения потенциальных антигенных эпитопов core антигена (1-129 а.к.) ВГС (генотип 1b) авторы синтезировали 58 перекрывающихся пептидов (Рис. 3, Табл. 4). Пептиды состояли из 15 аминокислотных остатков, каждый последующий пептид отличался от предыдущего сдвигом на 2 аминокислотных остатка (а.о.). Антигенную активность синтетических пептидов оценивали при помощи непрямого твердофазного ИФА. Пептиды сорбировали на поверхности микролунок полистироловых планшетов. Реактивность антител к core антигену ВГС определяли с использованием антител мыши к IgG человека, очищенных при помощи аффинной хроматографии и конъюгированных с пероксидазой хрена. Исследовали 60 охарактеризованных образцов сывороток крови (33 образца с подтвержденным содержанием антител к ВГС и 27 анти-ВГС ложнопозитивных образцов).

1 MSTNPKPQRK TKRNTNRRPQ DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG
61 RRQPIPKARQ PEGRAWAQPG YPWPLYGNEG MGWAGWLLSP RGSRPNWGPS
111 DPRRRSRNLG KVIDTLTCG

Рис.3. Core-белок полипротеина вируса гепатита С (субтип 1b).

Таблица 4.

Номер пептида	Локализация а.о.	Номер пептида	Локализация а.о.	Номер пептида	Локализация а.о.	Номер пептида	Локализация а.о.
1	1 – 15	16	31 – 45	31	61 – 75	46	91 – 105
2	3 – 17	17	33 – 47	32	63 – 77	47	93 – 107
3	5 – 19	18	35 – 49	33	65 – 80	48	95 – 109
4	7 – 21	19	37 – 51	34	67 – 81	49	97 – 111
5	9 – 23	20	39 – 53	35	69 – 83	50	99 – 113
6	11 – 25	21	41 – 55	36	71 – 85	51	101 – 115
7	13 – 27	22	43 – 57	37	73 – 87	52	103 – 117
8	15 – 29	23	45 – 59	38	75 – 89	53	105 – 119
9	17 – 31	24	47 – 61	39	77 – 91	54	107 – 121
10	19 – 33	25	49 – 63	40	79 – 93	55	109 – 123
11	21 – 35	26	51 – 65	41	81 – 95	56	111 – 125
12	23 – 37	27	53 – 67	42	83 – 97	57	113 – 127
13	25 – 39	28	55 – 69	43	85 – 99	58	115 – 129
14	27 – 41	29	57 – 71	44	87 – 101		
15	29 – 43	30	59 – 73	45	89 – 103		

В процессе исследования были детектированы, по крайней мере, два сильных антигенных эпитопа, локализованных в пределах 11-41 и 47-71 а.о. core белка ВГС. Двадцать девять анти-ВГС позитивных образцов сывороток крови продемонстрировали реактивность с пептидом, содержащим 11-41 а.о. core-белка ВГС, а 3 образца сывороток крови – с пептидом, содержащим 47-71 а.о. core-белка ВГС. Только один анти-ВГС позитивный образец сыворотки крови продемонстрировал реактивность с пептидом, содержащим 1-23 а.о. core-белка ВГС. Значительная часть анти-ВГС core - позитивных образцов сывороток крови (26 из 33) реагировала с наиболее

реактивной областью core-белка, локализованной в пределах 17 - 31 а.о. Большинство ложнопозитивных образцов сывороток крови (16 из 27) проявили реактивность с пептидом, содержащим 3-17 а.о. В подавляющем большинстве ложноположительные реакции были связаны с районом 1-23 а.о. (18 из 27) и районом 58-83 а.о. (6 из 27). Пятнадцать ВГС-позитивных образцов сывороток крови показали разный уровень реактивности с пептидом, содержащим 1-23 а.о. core-белка ВГС, но 14 из 15 образцов сывороток крови демонстрировали реактивность еще и с пептидом, содержащим 11-41 а.о. core-белка ВГС. Данные представлены на рис. 4 и 5.

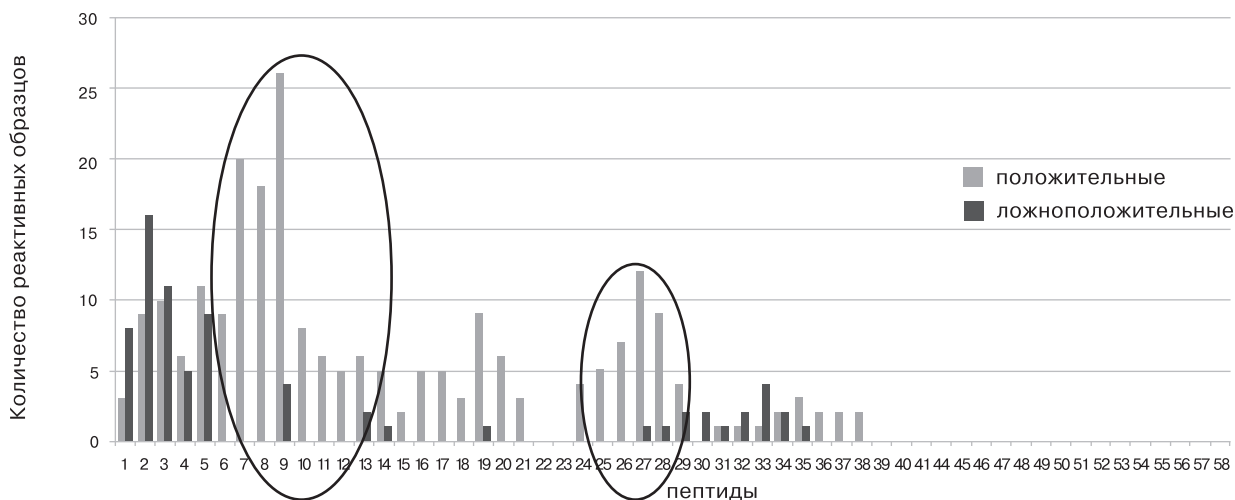


Рис.4. Количество реактивных образцов сывороток крови.

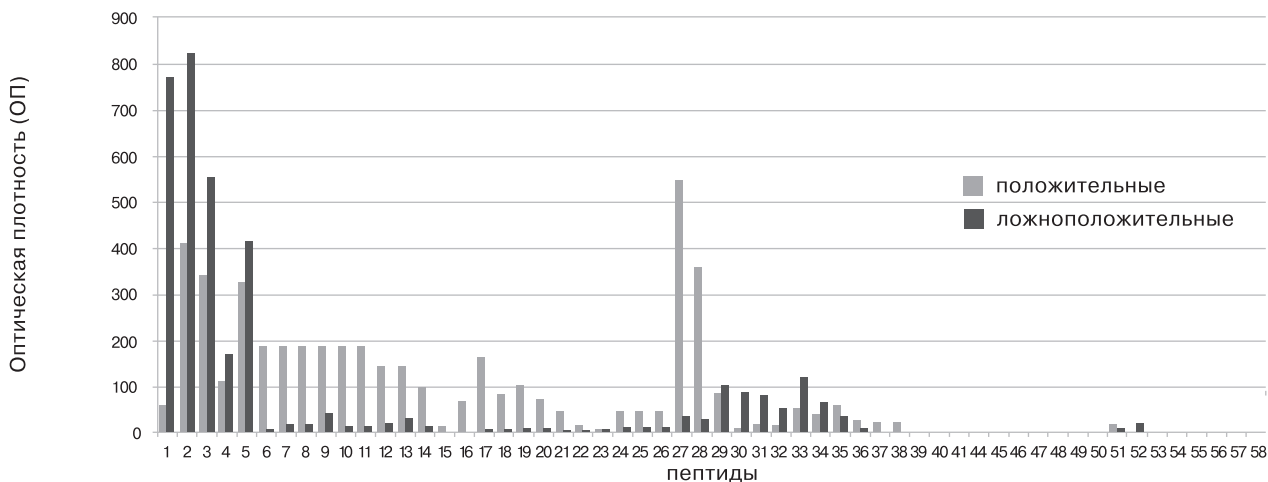


Рис.5. Распределение средних значений оптической плотности при исследовании позитивных и ложнопозитивных по анти-ВГС образцов сывороток крови.

Авторы констатируют, что в результате исследования были идентифицированы два сильных антигенных эпитопа, локализованных в пределах 11-41 и 47-71 а.о. core-белка ВГС. Большинство ЛПР связано с регионами 1 – 23 а.о. и 53-83 а.о. core-белка ВГС. Ложнопозитивная реактивность, вероятнее всего, может быть вызвана перекрестными реакциями между распространенными патогенами человека и антигенными детерминантами в составе core-белка ВГС, что подтверждается исследованиями других авторов. Этот факт, по мнению исследователей, важно учитывать при подборе аминокислотных последовательностей

белка в процессе конструирования диагностических тест-систем [28].
 Многочисленные научные исследования, проводимые в НПО «Диагностические системы», успешно используются в производстве диагностических препаратов нового поколения, отвечающих требованиям международных стандартов. Внедрение результатов научной деятельности в повседневную медицинскую практику позволит существенно расширить спектр и повысить качество лабораторных исследований, обеспечить своевременность и эффективность лечения социально значимых инфекций.

Литература.

1. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.3112-13 «Профилактика вирусного гепатита С». М., 2014.
2. Гепатит С. – Информационный бюллетень ВОЗ. Июль 2016; (164) Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/ru>
3. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году». Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. М.; 2017: 110-11. <http://rospotrebnadzor.ru/>
4. Masalova O., Lakina E., Abdulmedzhidova A., Atanadze S., Ulanova T., Burkov A., Khudyakov Y., Fields H., Kushch A. Detection of NS3 and NS4 proteins in hepatocytes of patients with chronic hepatitis C. *10th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease*. - Atlanta – Georgia, USA, April 11, 2000.
5. Ulanova T.I., Tuan D. D., Talekar G.R., Fields H.A., Khudyakov Y.E. Antigenic property of different sequence variants of the hepatitis C virus NS3 proteins., *20th Annual Meeting of the American Society for Virology*, Madison - USA, July 21-25, 2001:197 (P.26-8).
6. Talekar G.R., Dol T.D., Ulanova T., Liu P., Burkov A.N., Fields H.A., Khudyakov Y.E. Antigenic variability of the core protein of the hepatitis C virus. *20th Annual Meeting of the American Society for Virology*. - Madison - USA, July 21-25, 2001:102 (W22-6).
7. Khudyakov Y., Ulanova T., Talekar G., Tuan D. D., Burkov A., Fields H. Diagnostic relevance of the hepatitis C virus core and NS3 proteins. *8th International Symposium on hepatitis C virus & Related viruses*. - Paris – France, September 2-5, 2001. - P. 297.
8. Ulanova T., Talekar G., Chang J., Tuan D., Tun W., Burkov A., Fields H., Khudyakov Y. Identification and immunologic properties of antigenic regions with in the hepatitis C virus NS3 protein. *International Conference on Emerging Infections Diseases*. - Atlanta – Georgia, USA, March 24 – 27, 2002.- P.9.
9. Ulanova T., Tuan D., Talekar G., Burkov A., Fields H., Khudyakov Y. Antigenic property of different sequence variants of the hepatitis C virus NS3 proteins. *21th Annual Meeting of the American Society for Virology*. - USA, July, 2002. - P.197.
10. Ulanova T.I., Talekar G.R., Chang J.C., Tuan D.D., Tun W.M., Lopareva E.N., Burkov A.N., Fields H.A., Khudyakov Y.E. Two immunodominant regions with the hepatitis C virus NS3 protein. *The 12th International Congress of Virology*. – Paris – France, July, 2002.
11. Talekar G., Dol D., Ulanova T., Liu P., Burkov A., Fields H., Khudyakov Y. Antigenic variability of the core protein of the hepatitis C virus. *21th Annual Meeting of the American Society for Virology*. - USA, July, 2002.- P.102.
12. Ulanova T., Puzyrev V., Kulikova L., Bochkova G., Golubeva I., Obriadina A., Burkov A. A new anti-HCV EIA based on recombinant antigens derived from different sequence variants of hepatitis C virus. *15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* – Copenhagen - Denmark, April 2 – 5, 2005.- P.475.
13. Bochkova G.B., Polushina D.A., Kulikova L.V., Fomina S.N., Burkov A.N., Obriadina A.P., Ulanova T.I. Anti-HCV profile in serum specimens from HCV infected patients coinfecting with opportunistic diseases. *12th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease* -Paris – France, July 1-5, 2006. - P.150
14. Bochkova G., Fomina S., Puzyrev V., Burkov A., Obriadina A., Ulanova T. Influence of the HCV-CMV coinfection on the formation of antibody response to HCV and CMV antigens. *14th International Symposium on Viral Hepatitis C and Related Viruses*.- Glasgow - Scotland UK, September 9-13, 2007.
15. Bochkova G., Polushina D., Fomina S., Senyagina N., Puzyrev V., Burkov A., Ulanova T. The diagnostic value of the detection anti-HCV IgM to different hepatitis C antigens. *15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses*. - San Antonio - USA –October 5-9, 2008.
16. Astrakhtantseva I., Araujo A., Obriadina A., Kamilli S. Serum IgM antibodies to different HCV antigens in incident, chronic and resolved infection. *15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses* - San Antonio - USA, October 5-9, 2008.
17. Bochkova G., Fomina S., Puzyrev V., Obriadina A., Burkov A., Ulanova T. The evaluation of the new ELISA kit EIA-ANTI-HCV-SPECTRUM-M intended for separate detection of anti-IgM to different HCV antigens. *The Viral Hepatitis Congress*. - Frankfurt – Germany, September 7-9, 2012. - P2.
19. Bochkova G., Fomina S., Puzyrev V., Obriadina A., Burkov A., Ulanova T. The evaluation of the ELISA kit “DS-EIA-ANTI-HCV-SPECTR-GM” as supplemental assay for confirmation of anti-HCV screening positive results. *21th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – Milan - Italy, May 7-10, 2011. – P.2235.
20. Bochkova G., Puzyrev V., Obriadina A., Burkov A., Ulanova T. The evaluation of the ELISA kit «EIA-anti-HCV» with new recombinant antigens. *20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – Vienna - Austria, April 10-13, 2010. - P.1084
21. Klimashevskaya S., Ulanova T., Burkov A., Fields H., Obriadina A. Patients PCR and hepa-titis C avidity assay. *20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. - Vienna. - Austria – April 10-13, 2010. – P.1113.
22. Bochkova G., Fomina S., Shabalina T., Puzyrev V., Obriadina A., Burkov A., Ulanova T. The value of anti-HCV IgG avidity index and anti-HCV IgG profile for distinguishing of acute and chronic hepatitis C virus infection. *19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses*. – Venice – Italy, October 5-9, 2012. – P.264.
23. Zagryadskaya Y., Fedorova O.F., Sharipova I.N., Klimashevskaya S.N., Obriadina A. P., Khodak N.M., Puzyrev V.F., Burkov A.N., and Ulanova T.I. Assessment of avidity index in blood donors samples with indeterminate anti-HCV reactivity. *25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. - Copenhagen – Denmark, April 25-28, 2015. - EV 1074.
24. Bochkova G., Puzyrev V., Zagryadskaya Y., Obriadina A., Burkov A., Ulanova T. Diagnostic relevance of sequence of heterogeneity of the HCV NS4 mosaic proteins. *23rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)*. – Berlin - Germany, April 27-30, 2013. – P.2213.
25. Bochkova G., Ulanova T., Puzyrev V., Burkov A. Influence of heterogeneity of amino acid sequence varying considerably on immunoreactivity antigen region of HCV NS5 protein from position 2212 to 2313 aa. *24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.- Barcelona – Spain, May 10-13, 2014. – P.1401.
26. Matveeva E., Klimashevskaya S., Konavalenak I., Vankova O., Ulanova T., Burkov A., Obriadina A. Correlation between viral load and signal in combo-HCV-Ag/Ab enzyme immunoassay in human serum or plasma. *24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – Barcelona – Spain, May 10-13, 2014. – R601.
27. Konavalenak I., Matveeva E., Ulanova T., Burkov A., Obriadina A. HCV-specific IgG1 and IgG3 response to HCV infection. *24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – Barcelona – Spain, May 10-13, 2014. – R600.
28. Zagryadskaya Y., Klimashevskaya S., Matveeva E., Burkov A., Obriadina A. Identification of HCV core regions responsible for false positive reactions. *27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease (ECCMID)*. – Vienna – Austria, April 22-25, 2017 – P.0844.

Фисенко Н.С., Шальнова Е.Е., Обрядина А.П.

Парентеральные гепатиты В и С и их сочетания с другими инфекциями у беременных женщин

ООО «НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород

Гепатиты В и С являются одной из самых важных проблем современной медицины во всем мире и представляют реальную угрозу для различных популяций населения, в том числе для беременных женщин. Актуальность проблемы становится еще более значимой в акушерстве и педиатрии в связи с высоким риском развития осложнений у женщин, вертикальной передачи, внутриутробного заражения плода и возможностью инфицирования ребенка в родах и послеродовом периоде.

Вертикальный путь передачи вируса гепатита В (ВГВ) реализуется, главным образом, во время родов; внутриутробно инфицируются около 5% плодов. При заражении женщины в III триместре беременности риск заражения ребенка достигает 70%, при носительстве HBsAg — 10% [1].

Передача вируса гепатита С (ВГС) от инфицированной матери ребенку возможна во время беременности и родов (риск 1-5%). Вероятность инфицирования новорожденного значительно возрастает при высоких концентрациях ВГС в сыворотке крови матери, а также при наличии у нее ВИЧ-инфекции [2].

Исследованиями многих авторов установлено, что гепатиты В и С оказывают неблагоприятное влияние на характер течения беременности, роды и развитие ребенка. Отмечается высокий процент преждевременных родов, самопроизвольных выкидышей, кровотечений в раннем и позднем послеродовом периодах. Наличие острых вирусных гепатитов у беременной женщины может приводить к задержке роста и развития плода. Кроме того, создается угроза инфицирования ребенка данными вирусами с развитием вялотекущих форм хронических вирусных гепатитов [3].

Неблагоприятное влияние вирусных гепатитов на плод и новорожденного может проявляться в виде внутриутробной гипоксии, недоношенности, а также более низкой средней массы и оценки по шкале Апгар. Пациентки с вирусными гепатитами относятся к группе высокого риска по перинатальной и материнской смертности [4].

Проблема инфекционных заболеваний у беременных женщин, в том числе парентеральных гепатитов В и С (как отдельно, так и в сочетании с другими инфекциями), вызывает огромный профессиональный интерес у исследователей и практикующих медицинских специалистов различных стран мира.

В настоящем дайджесте публикаций представлен ряд современных работ зарубежных и российских исследователей, посвященных изучению распространенности этих инфекций у беременных женщин, выявлению факторов риска инфицирования самой женщины и вертикальной передачи инфекции ребенку.

Распространенность гепатита В

Изучению распространенности гепатита В (ГВ) у беременных женщин, как острой, так и хронической его формы, посвящено немало публикаций отечественных и зарубежных авторов.

Так, в обзоре Российских специалистов из Санкт-Петербурга (Белопольская М.А., Воронина О.И.) проанализирована распространенность данной инфекции в разных регионах мира [5]. Авторы отмечают, что в странах с высокой и средней степенью инфицированности населения ВГВ отмечается высокая частота встречаемости хронического гепатита В (ХГВ) у женщин детородного возраста и возможность передачи инфекции от этих женщин их новорожденным детям. Распространенность ХГВ широко варьирует в различных частях света и может колебаться от 0,1 до 20%.

К регионам с высоким уровнем распространенности (8% и более HBsAg+) относятся страны Азии (кроме Японии), часть Ближнего Востока, регионы к югу от Сахары и в бассейне Амазонки. Регионы со средним уровнем распространенности (2-8% HBsAg+) включают полуостров Индостан, части Центральной Азии и Ближнего Востока, Восточной и Южной Европы, а также части Южной Америки. Регионы с низким уровнем (менее 2% HBsAg+) относятся США, Северная Европа, Австралия, Япония.

Авторы обзора обращают внимание на то, что в России уровень инфицированности ВГВ существенно отличается в зависимости от региона, среди практически здорового взрослого населения колеблется от 1,5 до 10%.

Уровень распространенности HBsAg среди беременных варьирует в различных странах Европы от менее 0,1% в странах Северо-Западной Европы до 1-4% в Южной Европе. Самые высокие показатели отмечаются на юге и востоке Центральной Азии. В целом распространенность ХГВ у беременных не отличается от среднего уровня инфицированности населения конкретного региона. Однако, как замечают авторы, он может меняться в зависимости от расы и этнической принадлежности беременных и приводят данные (Sloan R.D. и соавт., 2009) о том, что наиболее высокий показатель инфицированности ВГВ (6%) был отмечен у азиатских женщин, в то время как у женщин черной, белой расы и испаноязычных женщин этот показатель составил 1, 0,6 и 0,14% соответственно. В странах с высоким уровнем распространенности HBsAg на перинатальную передачу приходится большинство случаев заражения ХГВ.

На современном этапе существует два подхода к обследованию беременных женщин на HBsAg – универсальный (всеобщий) и скрининг в группах риска.

В США тестирование на HBsAg рекомендуется каждой беременной независимо от предыдущего тестирования или наличия вакцинации в анамнезе. В других странах часто отсутствует последовательная политика в отношении обследования женщин на ВГВ-инфекцию во время беременности, и многие страны полагаются на стратегию «факторов риска», чтобы определить показания для скрининга. Тем не менее, около 50% инфицированных беременных женщин не были определены при использовании этой стратегии [5].

В России обследование на HBsAg входит в план обязательного обследования беременных, однако в связи с возрастающей миграцией населения, в том числе и из регионов высоко эндемичных по ВГВ, и, несмотря на наличие включенной в национальный календарь прививок обязательной вакцинации новорожденных, проблема распространения ВГВ остается актуальной.

Сочетание вакцины и иммуноглобулина против ГВ достаточно эффективно предотвращает передачу ВГВ от матери ребенку. Тем не менее, примерно 10% новорожденных от матерей с ХГВ оказываются инфицированными, а вовремя проведенная вакцинация неэффективна. В настоящее время считается, что основной причиной неудачной вакцинации является пренатальная или внутриутробная передача ВГВ [5].

Заражение может происходить при вертикальной передаче инфекции от матери к ребенку (ПИМР), особенно в тех случаях, когда у матери определяется высокий уровень вирусной нагрузки. Уровень HBsAg ВГВ положительно коррелирует с уровнем вирусной нагрузки, что используется для мониторинга лечения ХГВ.

Исследователи из Индонезии (Fujiko M. и соавт.) оценивали полезность количественного определения HBsAg у HBsAg-положительных беременных женщин для прогнозирования определения уровня вирусной нагрузки [6].

В скрининговом исследовании на наличие HBsAg приняли участие в общей сложности 943 беременных женщин, проживающих в г. Макаassar, Индонезия. Шестьдесят четыре беременные женщины, которые были определены как HBsAg-положительные, приняли участие в дальнейшем исследовании. Уровень HBsAg и е-антигена ВГВ (HBeAg), а также уровень антител к HBeAg (анти-HBe) определяли при помощи серологических методов. Вирусную нагрузку определяли методом ПЦР в режиме «реального времени». Секвенирование фрагментов ДНК ВГВ и анализ генома позволили идентифицировать генотип и мутации в основном core промоторе (basal core promoter, BCP)/pre-core (PC) области.

Из 64 беременных женщин, у 12 человек (18,8%) обнаружены HBeAg, а 52 женщины (81,3%) оказались HBeAg-негативными. Уровни HBsAg и ДНК ВГВ были значительно выше в группе HBeAg-положительных беременных женщин ($p < 0,001$). Выявлена положительная корреляция между уровнем HBsAg и уровнем ДНК ВГВ в «HBeAg-положительной» группе ($p = 0,659$; $p = 0,02$), но не в «HBeAg-негативной» группе ($p = 0,194$; $p = 0,168$). Низкие уровни HBsAg ($< 3,0 \log_{10}$ МЕ/мл) соответствовали уровням ДНК ВГВ $< 6,0 \log_{10}$ МЕ/мл ($p = 0,404$; $p = 0,001$), что подтверждало ПИМР. Наиболее распространенным оказался генотип С вируса, чем генотип В,

но это не было связано с уровнем HBsAg, вирусной нагрузкой или статусом по HBeAg. Отсутствие HBeAg у двух третей пациенток с высоким уровнем ДНК ВГВ могло быть следствием выявленных мутаций в core области (A1762T/G1764A) и/или pre-core области (G1896A). У лиц с отсутствием HBeAg отмечена высокая частота мутаций в BCP/CP областях, с которыми, возможно, связано отсутствие выявленной корреляции. Авторы данного исследования пришли к выводу, что при низком уровне HBsAg, ассоциирующимся с низким риском трансмиссии инфекции от матери ребенку, отсутствует необходимость определять ДНК ВГВ.

Исследованию уровня распространенности ГВ по результатам детекции HBsAg среди беременных женщин Варненского региона Болгарии посвящена и работа Tsankova G.S. и соавт. [7].

За период 2009–2013 гг. средний уровень распространенности HBsAg, определенный при исследовании 2700 образцов сывороток крови, составил 2,26% (95% ДИ: 1,75; 2,91).

Воздействие отдельных факторов риска инфицирования ВГВ у беременных женщин авторы оценивали по величине относительного риска (ОР). Анализ показал, что для таких факторов риска как проживание в сельской местности и принадлежность к этническим меньшинствам величина ОР составила 2,40 (95% ДИ: 1,46; 3,94) и 2,43 (95% ДИ: 1,46; 4,05) - для таких факторов как проживание в городской местности и принадлежность к этническому большинству, соответственно, то есть находятся практически на одном уровне.

Не меньший интерес представляет работа Weis N. и соавт., которыми в 2005 году в Дании было проведено скрининговое исследование на маркеры ВГВ среди беременных женщин и детей, рожденных от матерей инфицированных этим вирусом и получивших иммуноглобулин и вакцину против ВГВ при рождении и только вакцину против ВГВ через 1, 2 и 12 месяцев [8]. Цель данного исследования состояла в оценке риска вертикальной передачи ВГВ детям от матерей с хронической ВГВ-инфекцией, а также в изучении иммунного ответа у детей и определении возможных прогностических факторов риска передачи ВГВ от матери ребенку.

В медицинской базе данных Дании о пациентах, страдающих гепатитами В и С, авторы нашли информацию о 589 ВГВ-инфицированных женщинах, родивших 686 детей, из них 370 детей были рождены 322 женщинами, обратившимися в медицинское учреждение. В исследование были включены 132 ребенка, рожденных от 109 матерей; образцы сывороток крови 128 детей исследовали на наличие HBsAg, анти-HBc (суммарные), анти-HBs и ДНК ВГВ, а также исследовали образцы слюны 4 детей, у которых первоначально исследовали образцы сывороток крови на наличие анти-HBc.

В ходе исследования авторы работы определили частоту вертикальной передачи ВГВ в Дании, которая составила 2,3% [95% ДИ: 0,5; 6,5], высокий процент HBsAg-негативных детей с низким содержанием антител к HBsAg (анти-HBs) (18,4%) и высокий уровень (15,2%) детей с разрешившейся ВГВ-инфекцией. Не выявлено статистически значимых факторов риска со стороны матери, связанных с вертикальной передачей ВГВ.

По результатам проведенного исследования авторы установили, что при низком уровне распространенности ВГВ-инфекции в Дании и, несмотря на национальную программу вакцинации, уровень вертикальной трансмиссии вируса составил 2,3% в популяции детей, рожденных от ВГВ-инфицированных матерей. Кроме того, у значительной части детей определены низкие уровни антител к HBsAg и высокий уровень серологических маркеров, свидетельствующих о разрешившейся ВГВ-инфекции.

Изучению прогностических факторов спонтанной послеродовой сероконверсии е-антигена (HBeAg) ВГВ, а также определению уровня HBsAg и факторов его сероклиренса у инфицированных беременных женщин было посвящено исследование коллектива авторов из Китая (Hu Y. и соавт.) [9].

В исследовании приняли участие 419 женщин инфицированных ВГВ, образцы сывороток крови которых были получены во время беременности, в период с августа 2002 по июль 2004 года, заморожены при -30°C и сохранены для последующих исследований в октябре 2009 года — марте 2010 года. Определяли различные вирусологические факторы и сравнили их у женщин с наличием или без сероконверсии и сероклиренса.

В последующих исследованиях приняли участие в общей сложности 264 (63,0%) женщины, не получавшие противовирусной терапии, средний период наблюдения составил 6,4 года (5,4-7,4). Из 76 женщин, у которых был детектирован HBeAg во время беременности, в течение периода наблюдения выявлено 42 (55,3%) женщины с наличием сероконверсии от HBeAg к анти-HBe. По сравнению с беременными женщинами, у которых определен уровень ВГВ $\geq 3 \times 10^7$ МЕ/мл или значение коэффициента позитивности (КП) для HBeAg ≥ 770 КП, у женщин с уровнем ДНК ВГВ $< 3 \times 10^7$ МЕ/мл или значением КП для HBeAg < 770 отмечен более высокий уровень сероконверсии, отношение шансов (ОШ, OR) составило 7,32 (95% ДИ: 2,00-26,78) и 5,94 (95% ДИ: 1,40-25,16), соответственно. У тридцати восьми (14,4%) женщин HBsAg исчез; сероклиренс HBsAg чаще наблюдался у беременных женщин с уровнем HBsAg 100-999 и < 100 МЕ/мл по сравнению с теми беременными, у которых уровень HBsAg составил > 1000 МЕ/мл; значение ОШ составило 2,58 (95% ДИ: 1,03-6,43) и 13,33 (95% ДИ: 5,07-35,07), соответственно.

По результатам проведенного исследования авторы пришли к заключению, что у HBeAg-позитивных беременных женщин с уровнем ДНК ВГВ $< 3 \times 10^7$ МЕ/мл или значением КП для HBeAg < 770 наиболее вероятно сероконверсия HBeAg в послеродовом периоде. Уровень HBsAg < 100 МЕ/мл является сильным предиктором спонтанного послеродового сероклиренса HBsAg.

Распространенность гепатита С

Поскольку ГС также является серьезной проблемой для беременных женщин и их детей, важно оценивать распространенность данной инфекции для разработки и внедрения превентивных мер по охране здоровья новорожденных.

По современным оценкам специалистов около 3% населения земного шара инфицировано ВГС. На его долю приходится около 20% регистрируемых случаев острого

и 70% случаев хронического гепатита. Распространенность ВГС-инфекции у беременных в Европе колеблется от 1 до 2,5%. Частота вертикальной передачи ВГС колеблется по данным разных авторов от 3 до 10%, риск вертикальной передачи ВГС составляет от 3 до 7% [10].

Частота выявления антител к ВГС у беременных в РФ составляет около 2,8% [10]. В нашей стране определение антител к ВГС является обязательным при обследовании всех беременных женщин, в то время как в Европе и США проводится только беременным из групп риска.

В настоящее время широко применяются антенатальные программы скрининга на ГВ и ВИЧ-инфекцию, однако внедрение аналогичной программы для ГС требует дополнительного обсуждения. При этом исследователи разных стран делают акцент на необходимости учета распространенности данной инфекции и осуществления профилактических мер, направленных на охрану здоровья новорожденных. Заслуживает внимания ряд работ исследователей из разных стран по оценке распространенности антител к ВГС у беременных.

Так, группой специалистов из Центральной Африки (Njouom R. и соавт.) проведено исследование по оценке уровня распространенности антител к ВГС, РНК ВГС и определении генотипа вируса в группе 1 494 беременных женщин, посещающих дородовые медицинские учреждения в г. Яунде (Республика Камерун), у которых были проведены скрининговые исследования на наличие антител к ВГС [11].

Антитела к ВГС авторы определяли при помощи ИФА тест-систем 3-го поколения («Monolisa anti-HCV plus», v. 2, производства компании «BioRad», Richmond, CA, США). Все анти-ВГС позитивные образцы сывороток исследовали при помощи другой ИФА тест-системы 3-го поколения (AxSYM HCV v. 3, производства «Abbott Laboratories», Abbott Park, IL), затем определяли уровень РНК ВГС (при помощи тест-системы «Amplicor HCV», производства «Roche Diagnostics», Базель, Швейцария). Генотип определяли при помощи филогенетического анализа фрагмента гена NS5b. В образцах сывороток крови 73 беременных женщин обнаружены антитела к ВГС при первоначальном исследовании в первой ИФА тест-системе, но из них только 28 образцов сывороток крови детектированы как анти-ВГС-позитивные при повторном исследовании в ИФА тест-системе другого производителя.

Распространенность антител к ВГС составила 1,9% (28/1,494) (95% ДИ: 1,3-2,7%). В 21 из 28 (75%) образцов сывороток крови положительных в обеих ИФА тест-системах, детектирована РНК ВГС. В 45 образцах сывороток крови анти-ВГС негативных по результатам исследования во второй ИФА тест-системе, РНК ВГС не обнаружена. Выявлен ВГС субтипов 1a (24%), 2f (38%) и 4f (38%).

Авторы работы подчеркнули значимость своего исследования по определению уровня антител к ВГС в крови беременных женщин Камеруна, поскольку исследований по этой теме опубликовано очень мало. На основании полученных результатов исследователи пришли к выводу, что доля ВГС-серопозитивных беременных женщин с детектированной РНК ВГС аналогична той, которая наблюдается в странах Европы; в Камеруне было обнаружено несколько генотипов ВГС.

Одной из работ, посвященных изучению вопроса внедрять ли в практику скрининговое определение распространенности антител к ВГС у беременных для ретроспективной диагностики инфекции, стало исследование Orkin C. и соавт. из Великобритании [12].

Целью несвязанного анонимного скринингового исследования образцов сывороток крови, полученных от беременных женщин, наблюдающихся в антенатальных клиниках двух госпиталей Восточного Лондона (Великобритания), являлась оценка распространенности антител к ВГС. В ходе исследования в отделении экстренной медицинской помощи одного из этих госпиталей неожиданно был выявлен высокий уровень распространенности антител к ВГС, который составил 2,6% (уровень вирусемии - 1,2%).

Одну тысячу образцов сывороток крови тестировали на наличие антител к ВГС, в позитивных образцах дополнительно определяли РНК ВГС. Исследование проводили в рамках проекта комитета Национальной службы по вопросам этики в сфере исследований (NRES) в Восточном Мидлэндсе, уникальный идентификационный номер (ID) 181154, регистрационный номер 15/WS/0125.

Уровень распространенности антител к ВГС составил 0,5% (5/1000), вирусемия была лабораторно подтверждена в 0,1% (1/1000) случаев. Частота распространенности маркеров других вирусов – возбудителей гемотрансмиссивных инфекций была выше и составила 1% (10/1000) для HBsAg и 0,3% (3/1000) – для антител/антигена ВИЧ. Случаев коинфекций выявлено не было.

Авторы сделали заключение о необходимости проведения дополнительных исследований для установления уровня распространенности ВГС в популяции беременных женщин. Включение дополнительных исследований по выявлению антител к ВГС в программу антенатального скринингового обследования беременных, по мнению авторов, даст уникальную возможность своевременно диагностировать инфекцию и сохранить здоровье беременных женщин, их детей, партнеров и будущие беременности в новую эру в лечении гепатита С.

Коинфекции вирусами гепатитов В, С и ВИЧ

Несомненный интерес представляют исследования по изучению уровня распространенности гепатитов В и С и определению факторов риска инфицирования среди беременных женщин при наличии у них сочетанной инфекции этими и другими вирусами.

В кросс-секционном исследовании Ephraim R. и соавт. приняли участие 168 беременных женщин, наблюдавшихся в Пресвитерианском госпитале г. Агого в Северном Асанте Аким муниципальном регионе Ашанти Республики Гана [13]. Образцы сывороток крови были собраны для выявления HBsAg и анти-ВГС. Для получения демографических данных и идентификации факторов риска, связанных с этими двумя инфекциями, участницы исследования предварительно отвечали на вопросы анкеты.

Из 168 женщин - участниц исследования, у 16 (9,5%) человек выявлен HBsAg и у 13 (7,7%) обнаружены антитела к ВГС, уровень распространенности составил 9,5% и 7,7% соответственно. Доля беременных женщин, у которых

обнаружены маркеры обеих инфекций (коинфекция ВГВ/ВГС) составила 0,6%. К факторам риска инфицирования ВГС, были отнесены такие факторы как переливание крови, татуаж и повторное использование нестерильных инъекционных игл ($p=0,001$). В отношении ГВ не было выявлено каких-либо факторов риска ($p>0,05$).

Результаты данного исследования демонстрируют высокий уровень распространенности ГВ и ГС среди беременных женщин; к факторам риска, связанным с ВГС, были отнесены переливание крови, нанесение татуировок и повторное использование инъекционных игл. Для снижения темпов распространения парентеральных гепатитов среди населения страны и обеспечения прекращения их вертикальной передачи, по мнению авторов работы необходимы разработка и реализация эффективных национальных программ по борьбе с гепатитами В и С.

Парентеральные вирусные гепатиты, являющиеся опасными инфекционными заболеваниями с поражением печени, являются также серьезной проблемой во многих развивающихся странах мира, в том числе в Эфиопии.

Коллективом специалистов из Эфиопии (Molla S. и соавт.) проведено кросс-секционное исследование для определения уровня распространенности таких серологических маркеров как HBsAg ВГВ и антитела к ВГС, а также для установления социально-демографических факторов, ассоциированных с выявлением этих маркеров в образцах сывороток крови беременных женщин, наблюдавшихся в госпитале Felege Hiwot на северо-западе Эфиопии [14].

Свое исследование авторы проводили на базе госпиталя в период с ноября 2013 по январь 2014 года. Исследовали случайно отобранные образцы сывороток крови 384 беременных женщин. Социально-демографические характеристики обследуемых, данные акушерского анамнеза и информация о потенциальных факторах риска были получены в ходе полуструктурированного интервью. Детекцию HBsAg и антител к ВГС в исследуемых образцах сывороток крови осуществляли при помощи иммунохроматографических тест-систем. Для оценки взаимосвязей между социально-демографическими показателями и статусом инфицирования ВГВ и ВГС использовали критерий хи-квадрат (χ^2). Для определения силы взаимосвязи между факторами риска и инфекциями, вызываемыми ВГВ или ВГС, использовали метод логистической регрессии. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

В ходе исследования установлено, что показатели распространенности антител к вирусам гепатитов В и С составили 4,4 и 0,26%, соответственно. Не было выявлено беременных женщин, инфицированных обоими вирусами (с наличием коинфекции ВГВ/ВГС). При оценке потенциальных факторов риска по данным анамнеза наиболее статистически значимыми предикторами гепатитов оказались: стоматологические процедуры (сОШ=4,104, ДИ=1,276-13,201, $p=0,018$), домашний уход за инфекционным больным (сОШ=5,475, ДИ=1,472-20,368, $p=0,011$), наличие нескольких половых партнеров (сОШ=5,041, 95% ДИ 1,580-16,076, $p=0,006$), и участие традиционных помощников в родах — повивальных бабок, знахарей и пр. (сОШ=4,100, 95% ДИ 0,195-86,129, $p=0,024$).

Данное исследование показало, что Эфиопия является регионом с промежуточной эндемичностью (4,4%)

по ВГВ-инфекции у беременных женщин, а уровень распространенности антител к ВГС у них определен очень низким. Однако авторы признают, что полученные данные не являются окончательными и нуждаются в подтверждении результатами других аналогичных исследований с большим размером выборки. Таким образом, по итогам исследования авторы предлагают расширить охват беременных женщин скринингом на маркеры ГВ и ГС, провести широкомасштабную кампанию по медико-санитарному просвещению населения о факторах риска, путях передачи инфекции и мерах профилактики.

В связи с тем, что парентеральные вирусные гепатиты во время беременности наносят существенный вред здоровью и жизни, как самой женщины, так и ее будущего ребенка, Kumari K. и соавт. была предпринята попытка оценить серологический статус беременных женщин г. Карачи (Пакистан) по результатам выявления маркеров гепатитов В и С [15].

Авторы выполнили кросс-секционное обсервационное исследование на базе университетской и исследовательской клиники г. Карачи в период с января по сентябрь 2012 года. Исследовали образцы сывороток крови, полученные у случайно отобранных пациенток, полученные в ходе планового визита к врачу, и исследовали при помощи ИФА на наличие HBsAg и антител к ВГС.

По результатам скринингового популяционного исследования, выявлено 2% лиц с позитивной реакцией на ВГВ и 13,3% - с позитивной реакцией на ВГС. В анамнезе у всех беременных пациенток, позитивных по HBsAg и анти-ВГС – наличие однократных или повторных родов.

Авторы данной работы акцентировали внимание на том, что высокая частота позитивных реакций на ВГВ и ВГС в выборке пациенток данного исследования, свидетельствует о важности проведения антенатального скрининга этих вирусных инфекций, имеющих последствия, как для здоровья женщины-матери, так и для ребенка. А также на том, что большая распространенность ГС по сравнению ГВ вызывает особую обеспокоенность.

В другом кросс-секционном исследовании, проводившемся в период с июля 2013 по апрель 2014 года Ahmad I. (Пакистан) изучал распространенность ГВ и ГС среди беременных женщин, проживающих в г. Пешавар [16].

Исследовали в общей сложности 10 288 образцов сывороток крови беременных женщин, проживающих в разных районах Пешавара. Образцы сывороток центрифугировали на высокой скорости для получения максимально чистой сыворотки. Для выявления инфекций, вызванных ВГВ и ВГС, проведено скрининговое исследование всех образцов сывороток крови с использованием метода иммунной хроматографии.

Уровень общей распространенности ВГВ-инфекции составил в среднем 1,16%, хотя он колебался на протяжении всего периода исследования. Наиболее высокий показатель распространенности ГВ (1,69%) отмечен в январе 2014 года. Уровень общей распространенности ВГС-инфекции среди беременных женщин составил 1,42%. Наиболее высокий уровень распространенности ВГС-инфекции (2,22%) зарегистрирован в марте 2014 года.

Автор исследования пришел к заключению, что у беременных женщин Пешавара уровень распространенности инфекции вызванной ВГС выше, чем ВГВ-инфекции.

Заслуживает внимания исследование группы американских специалистов (Salemi J.L. и соавт.) по изучению влияния различных факторов на заболеваемость гепатитами В и С в период беременности [17]. Авторы отметили, что ранее в США не проводилось крупных популяционных исследований по изучению распространенности инфекций, вызванных ВГВ и ВГС в репрезентативных выборках населения и не определены тенденции заболеваемости этими инфекциями в специфических подгруппах беременных женщин. В связи с этим авторы провели кросс-секционное исследование по изучению распространенности инфекций, вызванных ВГВ и ВГС в репрезентативных выборках населения и не определены тенденции заболеваемости этими инфекциями в специфических подгруппах беременных женщин. В связи с этим авторы провели кросс-секционное исследование данных из регистра Nationwide Inpatient Sample (национальной госпитальной выборки) о новорожденных, родившихся от одноплодной беременности за период с 1998 по 2011 годы. После идентификации новорожденных, инфицированных ВГВ, ВГС и ВИЧ в период беременности матери, определяли факторы риска. Тенденции по времени инфицирования были проанализированы с использованием логистической регрессии.

Показатели заболеваемости ГВ и ГС составили 85,8 и 118,6 на 100 тыс. населения, соответственно; однако не было выявлено значимого различия между материнскими и внутрибольничными факторами риска инфицирования. Показатель инфицирования ВГВ увеличился с 57,8 в 1998 году до 105,0 в 2011 году, ежегодный прирост составил 5,5% (95% ДИ: 3,8-7,3). Показатель инфицирования ВГС увеличился в 5 раз, с 42,0 в 1998 году до 210,0 в 2011 году. Эти тенденции наблюдались практически в каждой подгруппе. Однако авторы работы не обнаружили факторов, влияющих на увеличение распространенности гепатитов в период беременности. Отмечена национальная тенденция к росту распространенности гепатитов среди беременных женщин в группах высокого риска.

Авторы подчеркнули необходимость выработки всесторонних и скоординированных подходов к изучению девиантного поведения и внедрению профилактических программ, направленных на снижение факторов риска среди населения, а также на повышение эффективности специфической иммунопрофилактики и улучшение мероприятий по поиску/подбору и профессиональной подготовке медицинских работников.

Не менее информативны результаты работ ряда авторов, посвященных изучению распространенности антител к ВГВ, ВГС и ВИЧ в популяции беременных женщин при наличии у них коинфекции этими вирусами.

В своем исследовании коллектив специалистов из Бельгии (Bouaie N. и соавт.) оценивал уровень распространенности инфекций, вызываемых ВИЧ и ВГС в популяциях женщин, проживающих в Республике Мали (Западная Африка) [18]. Авторы провели два проспективных исследования в 2009 и 2010 годах. В одном из них приняли участие 1000 беременных женщин из 6 консультативных медицинских центров г. Бамако (столица Мали), находившихся под наблюдением специалистов в период с 26 мая по 16 июня 2009 года; в другом исследовании участие приняла 231 женщина в возрасте старше 50 лет из 2 клиник Бамако,

наблюдавшиеся у врачей общей практики в период с 25 октября по 24 декабря 2010 года. У пациенток обеих групп забирали образцы сывороток крови, которые замораживали и хранили до проведения исследований. Все образцы, первоначально оцененные в ходе ИФА-скрининга как положительные на антитела к ВИЧ и ВГС, были повторно исследованы в подтверждающих тестах. Определяли также молекулярные маркеры инфицирования ВГС.

В ходе исследования авторами было установлено, что распространенность антител к ВИЧ и ВГС в популяции антител к ВИЧ и ВГС в популяции беременных женщин составила 4,1% и 0,2% соответственно. Среди женщин старшей возрастной группы зарегистрирован более высокий уровень распространенности антител к ВИЧ и ВГС (6,1% против 6,5%). Распространенность антител к ВИЧ существенно не отличалась в группах женщин молодого и старшего возраста (4,1% против 6,1%). Однако распространенность антител к ВГС была статистически значимо выше среди женщин старшей возрастной группы по сравнению с молодыми женщинами (6,5% против 0,2%, $p < 0,01$). Из двух ВГС-серопозитивных беременных женщин, только у одной получен положительный результат ПЦР, выявлен ВГС генотипа 2 с уровнем вирусной нагрузки 1600 МЕ/мл. В группе взрослых ВГС-серопозитивных женщин, положительный результат ПЦР анализа был получен у 13 из 15 пациенток, инфицированных ВГС генотипа 1 или 2. Исследователи отметили, что во всем мире преобладающим является генотип 2 ВГС. Положительная прогностическая ценность (ППЦ) результатов исследований на ВИЧ при помощи иммунохроматографического экспресс-теста «VIKIA» в группе молодых женщин составила 100%, что было статистически значимо выше, чем ППЦ в группе женщин старшего возраста (87,5%), $p < 0,05$. И наоборот, ППЦ результатов исследований на ВГС, определенных с использованием ИФА-теста «Monolisa» оказалась статистически значимо выше у женщин старшей возрастной группы (88,2%), чем у беременных женщин (14,3%); ($p < 0,01$).

В заключение авторы сделали вывод о том, что уровень распространенности антител к ВИЧ был аналогичным в обеих субпопуляциях; инфекция, вызываемая ВГС, чаще регистрировалась у женщин старшей возрастной группы ($p < 0,01$). Значение ППЦ в скрининговых исследованиях варьировало в зависимости от возраста испытуемых.

Не меньший научный и практический интерес представляет коллективная работа Dionne-Odom J. и соавт. из Республики Камерун [19]. Исследователи оценивали распространенность и корреляты для некоторых инфекций у беременных женщин и доноров крови в условиях ограниченности экономических ресурсов. В 2014 году авторы провели кросс-секционное исследование, в котором проанализировали результаты лабораторных исследований у ВИЧ-инфицированных беременных женщин и добровольных доноров крови из медицинских учреждений Республики Камерун. Для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), противотрепонемных антител к возбудителю сифилиса и антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 использовали экспресс-тесты. Донорскую кровь исследовали также на ГС и малярию.

В результате проведенных исследований в группе 7069 беременных женщин отмечена значительная

вариабельность показателей распространенности инфекций, которые составили в среднем для ГВ — 4,4% (1,1-9,6%), для ВИЧ-инфекции — 6% (3,0-10,2%) и сифилиса — 1,7% (1,3-3,8). При оценке регрессионной модели к наиболее значимым факторам у беременных были отнесены городская прописка, наличие ГВ (скорректированное отношение шансов (сОШ) — 2,9; 95% ДИ: 1,6-5,4) и ВИЧ-инфекции (сОШ — 3,5; 95% ДИ: 1,9-6,7). В группе доноров крови средние значения показателей и их диапазоны составили для ГВ — 6,8% (5,0-8,8%), для ВИЧ-инфекции — 2,2% (1,4-2,8%), сифилиса — 4% (3,3-4,5%), малярии — 1,9% и для ГС — 1,7% (0,5-2,5%).

На основании полученных данных авторы сделали вывод о том, что ГВ, ВИЧ-инфекция и сифилис в популяциях беременных женщин и доноров крови в Республике Камерун характеризуются более высокими показателями распространенности в городских районах. А также акцентировали внимание на том, что мероприятия по предотвращению вертикальной передачи вышеуказанных инфекций должны включать проведение всеобщего скрининга по выявлению инфекций на ранних сроках беременности и использование эффективных средств профилактики, включая вакцинацию новорожденных детей одновалентной вакциной против ГВ.

Таким образом, результаты современных исследований в области лабораторной диагностики гепатитов В и С у беременных женщин подчеркивают важность разработки и реализации национальных программ скрининговых обследований с использованием информативных средств диагностики как обязательного условия при построении эффективной системы профилактики и охраны здоровья матери и ребенка.

Литература.

1. Айламазян Э.К., Кулаков В.И., Радзинский В.Е., Савельева Г.М. *Акушерство. Национальное руководство*. М.; ГЭОТАР-Медиа; 2009. - 1200 с.
2. *Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.3112-13 «Профилактика вирусного гепатита С»*, утв. Роспотребнадзором РФ от 22.10.2013 г. №58. М.; 2013.
3. Голубева А.В. *Особенности морфологических изменений при перинатальных гепатитах В и С*. Дисс.... канд. мед. наук. СПб.; 2004.
4. Лобачевская О.С., Царева С.Н., Царева Н.В. Влияние парентеральных вирусных гепатитов на течение беременности и исход родов. *Медицинский журнал*. 2016; 127-30.
5. Белопольская М.А., Воронина О.И. Беременность и вирусный гепатит В. *Вестник Российского университета дружбы народов*. Серия: Медицина. Акушерство и гинекология. 2012 (5):465-75.
6. Fujiko M., Chalid M.T., Turyadi, Ie S.I., Maghira, Syafrif et al. Chronic hepatitis B in pregnant women: is hepatitis B surface antigen quantification useful for viral load prediction? *Int J Infect Dis*. 2015 Dec; 41:83-9.
7. Tsankova G.S., Kostadinova T., Todorova T.T. Seroprevalence of hepatitis B among pregnant women in Varna Region, Bulgaria. *J Med Virol*. 2016 Nov; 88(11):2012-5.
8. Weis N., Cowan S., Hallager S., Dröse S., Kristensen L.H., Gronbaek K. et al. Vertical transmission of hepatitis B virus during pregnancy and delivery in Denmark. *Scand J Gastroenterol*. 2016 Oct 31:1-7.
9. Hu Y., Feng Z., Liu J., Chen J., Zhang S., Zhou Y.H. Virological determinants of spontaneous postpartum e antigen seroconversion and surface antigen seroclearance in pregnant women infected with hepatitis B virus. *Arch Med Res*. 2016 Apr; 47(3):207-13.

10. Белопольская М.А. Вирусный гепатит С и беременность. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. Акушерство и гинекология.* 2011(5):111-7.
11. Njouom R., Pasquier C., Ayouba A., Sandres-Sauné K., Mfououendoun J., Mony Lobe M. et al. Hepatitis C virus infection among pregnant women in Yaounde, Cameroon: prevalence, viremia, and genotypes. *J Med Virol.* 2003 Mar; 69(3):384-90.
12. Orkin C., Jeffery-Smith A., Foster G.R., Tong C.Y. Retrospective hepatitis C seroprevalence screening in the antenatal setting-should we be screening antenatal women? *BMJ Open.* 2016 May 26; 6(5):e010661.
13. Ephraim R., Donko I., Sakyi S.A., Ampong J., Agbodjakey H. Seroprevalence and risk factors of hepatitis B and hepatitis C infections among pregnant women in the Asante Akim North Municipality of the Ashanti region, Ghana; a cross sectional study. *Afr Health Sci.* 2015 Sep; 15(3):709-13.
14. Molla S., Munshea A., Nibret E. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen and anti HCV antibody and its associated risk factors among pregnant women attending maternity ward of Felege Hiwot Referral Hospital, northwest Ethiopia: a cross-sectional study. *Virol J.* 2015 Dec 2; 12:204.
15. Kumari K., Seetlani N.K., Akhter R. The emergent concern of seropositive status of hepatitis-B virus and hepatitis-C virus in the pregnant females attending A tertiary care hospital. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2015 Jan-Mar; 27(1):155-7.
16. Ahmad I. Prevalence of hepatitis B and C viral infection among pregnant women in Peshawar, Pakistan. *Hepat Mon.* 2016 Jun 1; 16(6):e36383.
17. Salemi J.L., Spooner K.K., Mejia de Grubb M.C., Aggarwal A., Matas J.L., Salihu H.M. National trends of hepatitis B and C during pregnancy across sociodemographic, behavioral, and clinical factors, United States, 1998-2011. *J Med Virol.* 2016 Nov 2. doi: 10.1002/jmv.24725.
18. Bouare N., Vaira D., Gothot A., Delwaide J., Bontems S., Seidel L. et al. Prevalence of HIV and HCV infections in two populations of Malian women and serological assays performances. *World J Hepatol.* 2012 Dec 27; 4(12):365-73.
19. Dionne-Odom J., Mbah R., Rembert N.J., Tancho S., Halle-Ekane G.E., Enah C. et al. Hepatitis B, HIV, and syphilis seroprevalence in pregnant women and blood donors in Cameroon. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2016; 2016:4359401.

**Тест-системы для диагностики гепатита С
производства ООО «НПО «Диагностические системы»**

Наименование тест-системы, краткое описание	Каталожный номер	Количество анализов	Срок годности
ИФА-АНТИ-НСV (комплекты 1, 2, 3, 4) CE ₀₄₈₃ № ФСР 2008/03013 Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G и M к вирусу гепатита С в сыворотке или плазме крови человека, иммуноглобулинах и других приготовленных из сыворотки (плазмы) крови человека <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	C – 155 C – 150 C – 153	96X5 96X2 96	24 месяца
ДС-ИФА-АНТИ-НСV-АВИДНОСТЬ № ФСР 2010/07464 Тест-система иммуноферментная для определения индекса авидности антител класса G к вирусу гепатита С методом ИФА, набор диагностический. <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	C – 651	48	12 месяцев
ИФА-АНТИ-НСVc-M № ФСР 2008/03018 Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса M к core-антигену вируса гепатита С в сыворотке или плазме крови человека <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	C – 253	96	24 месяца
ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-G № ФСР 2008/03017 Набор реагентов для идентификации спектра антител класса G к структурным (НСV-core-Ag) и неструктурным (НСV-NS3-Ag, НCV-NS4-Ag и НCV-NS5-Ag) белкам вируса гепатита С в сыворотке (плазме) крови человека с целью дифференциальной диагностики и прогноза заболевания гепатитом С <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	C - 351	24	12 месяцев

**Тест-системы для диагностики гепатита С
производства ООО «НПО «Диагностические системы»
(продолжение)**

Наименование тест-системы, краткое описание	Каталожный номер	Количество анализов	Срок годности
<p>ИФА-АНТИ-НСУ-СПЕКТР-М № ФСР 2008/03017</p> <p>Набор реагентов для идентификации спектра антител класса М к структурным (HCV-core-Ag) и неструктурным (HCV-NS3-Ag, HCV-NS4-Ag и HCV-NS5-Ag) белкам вируса гепатита С в сыворотке (плазме) крови человека с целью дифференциальной диагностики и прогноза заболевания гепатитом С</p> <p><i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i></p>	С - 352	24	12 месяцев
<p>ДС-ИФА-АНТИ-НСУ-СПЕКТР-GM (комплекты 1, 2, 3, 4) № ФСР 2008/03021</p> <p>Тест-система иммуноферментная для выявления спектра антител классов G и М к вирусу гепатита С и подтверждения результатов анти-HCV скрининга в сыворотке или плазме крови человека</p> <ul style="list-style-type: none"> - для выявления спектра антител классов G и М к структурным (core) и неструктурным (NS3, NS4 и NS5) белкам, сорбированным раздельно на 4-х стрипах - для выявления спектра антител классов G и М к структурным (core) и смеси неструктурных (NS3, NS4 и NS5) белков, сорбированных на 2-х стрипах <p><i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i></p>	С – 455 С – 451 С - 452	24X5 24 48	24 месяца
<p>ДС-ИФА-НСУ-АГАТ  0483 № ФСР 2011/12312</p> <p>Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антигена и антител к вирусу гепатита С в сыворотке или плазме крови человека, набор диагностический</p> <p><i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i></p>	С – 1954 С – 1953 С - 1952	96X5 96X2 96	13 месяцев
<p>ДС-ИФА-НСУ-АГ № ФСР 2011/12844</p> <p>Тест-система иммуноферментная для выявления антигена вируса гепатита С в сыворотке или плазме крови человека</p> <p><i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i></p>	С – 1962	96	13 месяцев
<p>МилаЛаб-ИФА-АНТИ-НСУ № РЗН 2014/1775</p> <p>Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G и М к вирусу гепатита С в сыворотке или плазме крови человека</p> <p>Рекомендуется для первичной лабораторной диагностики гепатита С и обследования доноров крови.</p> <p><i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i></p>	С –2164 С – 2163 С - 2162	96X5 96X2 96	24 месяца
<p>ДС-ВЛК-АНТИ-НСУ № ФСР 2010/08231</p> <p>Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие антител к вирусу гепатита С</p>	С - 731	24 флакона по 0,3 мл	5 лет
<p>ДС-Стандартная панель анти-НСУ № ФСР 2010/07217</p> <p>Стандартная панель сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С.</p> <p>Предназначена для контроля чувствительности и специфичности иммуноферментных тест-систем, выявляющих антитела к вирусу гепатита С. Может быть использована для научно-производственных целей, а также для внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий.</p>	С - 0380	20 фл. – с положит. образцами 8 фл. – с отрицат. образцами	5 лет

Вопросы качества лабораторных исследований

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

Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе

Продолжая тему контроля качества лабораторных исследований, поднятую в предыдущих выпусках нашего издания, приводим выдержки из информационных материалов «Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе», подготовленных сотрудниками ООО «НПО «Диагностические системы».

В настоящем номере публикуем главу, посвященную внутрилабораторному контролю качества результатов анализа.

Контроль качества клинических внутрилабораторных исследований включает создание и регулярное осуществление системы мероприятий для выявления и предотвращения недопустимых погрешностей и ошибок, которые могут возникнуть в процессе выполнения лабораторных исследований. Система контроля качества основана на принципах стандартизации всех этапов лабораторного исследования и анализе результатов внутрилабораторного контроля (ВЛК) и внешней оценки качества. Достоверность результатов лабораторных исследований характеризуется величинами погрешностей: систематической и случайной.

Для выявления и оценки систематических и случайных погрешностей результатов измерений, производимых в лаборатории, осуществляют внутрилабораторный и межлабораторный контроль качества лабораторных исследований. При этом используют ряд критериев качества:

- Точность измерений – близость результатов к истинному значению измеряемой величины. Высокая точность соответствует несущественным погрешностям, как при систематических, так и при случайных измерениях;
- Погрешность измерения – отклонение результата измерения от истинного значения измеряемой величины;
- Систематическая погрешность измерения – погрешность, остающаяся постоянной или закономерно изменяющаяся при повторных измерениях одной и той же величины;
- Случайная погрешность измерения – погрешность, изменяющаяся случайным образом при повторных измерениях одной и той же величины;
- Правильность измерений – отсутствие систематических погрешностей в результатах (для контроля правильности используется только материал с исследованным содержанием компонентов);
- Прецизионность – степень близости (или степень разброса) результатов для серии измерений, выполненных по данной методике на различных пробах одного и того же однородного образца. Прецизионность может рассматриваться на трех уровнях: сходимости, внутрилабораторная прецизионность и воспроизводимость;
- Сходимость результатов измерений – отсутствие существенных различий между результатами измерений, выполняемых в одинаковых условиях (контроль сходимости и воспроизводимости результатов исследований может осуществляться с помощью контрольного материала с неисследованным содержанием);
- Воспроизводимость результатов измерений – отсутствие существенных различий между результатами измерений, выполняемых в отличающихся условиях (в различное время, в разных местах) Воспроизводимость результатов исследований

характеризуется степенью их совпадения при многократном исследовании одной и той же пробы биологического материала. Воспроизводимость – это понятие, обратное коэффициенту вариации результатов. Чем меньше коэффициент вариации, тем выше воспроизводимость;

- Внутрисерийная воспроизводимость – качество измерений, отражающее близость друг к другу результатов измерений, выполняемых в одной и той же аналитической серии;
- Межсерийная воспроизводимость – качество измерений, отражающее близость друг к другу результатов измерений, выполняемых в разных аналитических сериях;
- Общая воспроизводимость – качество измерений, отражающее близость друг к другу результатов всех измерений (определяется внутрисерийной и межсерийной воспроизводимостью);

Примечание: обратным понятию воспроизводимости является понятие вариабельности измерений;

- Установленное значение – метод-зависимое значение определяемого показателя, указываемое изготовителем контрольного материала в паспорте или инструкции.

Контроль качества лабораторных исследований проводят путем сопоставления результатов измерений, полученных в лаборатории, с контрольным образцом и определяют величину отклонения. Поэтому важной составляющей организации ВЛК качества служит выбор адекватного контрольного материала.

Контрольный материал – однородный стабильный материал, результаты исследования которого используют для оценки погрешности выполняемых аналитических измерений.

Для контрольных измерений используют стандартные панели сывороток крови, изготовленные производственным путем как с исследованным, так и с неисследованным содержанием компонентов.

Панель сывороток представляет собой набор сывороток крови человека, содержащих маркеры конкретной инфекции в определенных концентрациях или не содержащих маркеров инфекции. Контрольные панели сывороток применяются как для оценки качества работы диагностических ИФА-лабораторий, так и для оценки квалификации лабораторного персонала, выявления ошибок в иммунодиагностике и устранения их причин.

Основными требованиями к контрольным материалам являются идентичность по физико-химическим свойствам анализируемому образцу; стабильность при хранении; минимальная вариабельность состава и свойств внутри серии; пригодность для выявления систематических и случайных погрешностей. Контроль сходимости и воспроизводимости результатов исследований осуществляется с помощью

контрольного материала с неисследованным содержанием; для контроля правильности используется только материал с исследованным содержанием компонентов. В клинической лабораторной диагностике в качестве установленного значения принимают метод-зависимое значение определяемого показателя, приводимое в паспорте (инструкции) к контрольному материалу, разрешенному Минздравом России к использованию в клинико-диагностических лабораториях.

Под ВЛК качества понимают проверку результатов измерений каждого аналита в каждой аналитической серии, осуществляемую ежедневно непосредственно в лаборатории. Цель внутрिलाбораторного контроля – выявление и устранение недопустимых отклонений от стандартного выполнения теста в лаборатории, т.е. выявление и устранение недопустимых аналитических ошибок.

Препарат для ВЛК качества представляет собой лиофильно высушенный образец сыворотки, содержащий определяемый маркер.

ВЛК предназначен для обеспечения внутрिलाбораторного контроля качества исследований при постановке иммуноферментного анализа, а именно:

1. Для оценки **сходимости** результатов измерений в ежедневной практике лабораторий – близость друг к другу результатов одной и той же измеряемой величины, выполненных повторно одними и теми же средствами, одним и тем же методом в одинаковых условиях и с одинаковой тщательностью;

2. Для оценки **воспроизводимости**, т.е. качества измерений, отражающего близость друг к другу результатов измерений, выполняемых в различных условиях (в различное время, разными операторами, в разных лабораториях);

3. Для выявления систематических и случайных ошибок при постановке ИФА.

Внесение ВЛК осуществляется в количестве, указанном для исследуемых образцов в инструкции по применению тест-системы.

I стадия - оценка сходимости

1. Процедура ВЛК качества производится посредством повторного измерения контрольного образца.

Для оценки сходимости результатов в лунках планшета одновременно проводят анализ ВЛК в 10 повторах.

2. Учёт результатов ВЛК следует проводить только в том случае, когда величины оптической плотности положительно и отрицательного контролей укладываются в пределы, регламентируемые нормативно-технической документацией на тест-систему. Оптическую плотность критическую (ОПкрит.) рассчитывают по формуле, приведённой в инструкции по применению тест-системы.

Для удобства вычислений рекомендуется вместо оптической плотности (ОП) использовать коэффициент позитивности (КП): $КП = ОП \text{ образца} / ОПкрит.$

3. Проведение статистической обработки полученных результатов с вычислением:

- среднего значения ($\bar{X}_{кп}$):

$$\bar{X}_{кп} = \frac{\sum КП}{n}$$

- среднеквадратичного отклонения (σ):

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X}_{кп} - X_n)^2}{n - 1}}$$

$\bar{X}_{кп}$ – средняя арифметическая величина КП из полученного количества повторов;

X_n – результат каждого исследования;

n – количество повторов (для подсчета необходимо не менее 10 повторов);

σ – среднеквадратичное отклонение;

\sum – знак суммирования.

- коэффициент вариации (CV):

$$CV(\%) = \frac{\sigma}{\bar{X}_{кп}} \times 100\%$$

CV при оценке сходимости не должен превышать 12%.

II стадия - оценка воспроизводимости и построение контрольных карт

1. Наряду с исследуемыми пробами, в лунки планшета вносится используемый ВЛК в двух повторах в количестве, указанном в инструкции по применению используемой тест-системы. Исследования проводятся ежедневно на протяжении 10 дней на одной и той же серии используемой тест-системы.

2. После получения 10 результатов измерений ВЛК проводится статистическая обработка данных с вычислением среднего значения ($\bar{X}_{кп}$), среднеквадратичного отклонения (σ) и коэффициента вариации при оценке воспроизводимости (CV). Если 1 или 2 из 10 значений КП выпадают из ряда измерений ВЛК, что приводит к недопустимому значению CV при оценке воспроизводимости, то такие значения не учитываются, и следует провести повторные (1 или 2) постановки ВЛК. В случае если 3 и более значений КП выпадает из ряда измерений ВЛК и CV превышает 24%, необходимо выяснить и устранить причины плохой воспроизводимости и затем повторить стадию 2, пункты 1, 2.

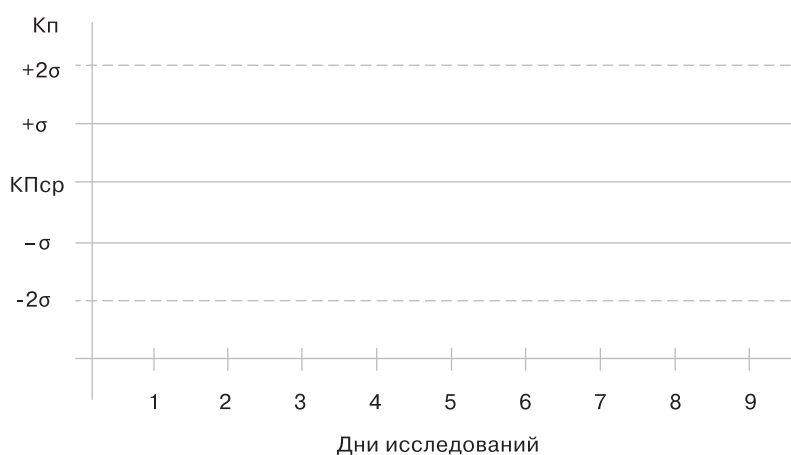
3. Для систематического оперативного слежения за стабильностью аналитической системы по результатам исследования контрольных проб используются контрольные карты. Контрольные карты – один из важнейших инструментов обеспечения качества – были предложены У. Шухартом, который рассматривал контрольную карту, как «голос процесса». О процессе говорят, что он «под контролем» только тогда, когда на достаточно большом объёме данных он демонстрирует, что протекает предсказуемо и однородно. Более того, в практическом плане такой процесс является, по существу, протекающим настолько однородно, насколько это возможно. Поэтому, любой процесс, не протекающий однородно, насколько возможно, можно назвать неконтролируемым. Следовательно, контрольная

карта является документом, позволяющим дать характеристику поведения процесса. Контрольные карты Шухарта весьма информативны. Какой-либо конкретно выявленный контрольный признак является указанием на тип происшедшего события (скачок, сдвиг, дрейф и т.д.).

Совокупность проб, исследованных в условиях повторяемости, называют «аналитическая серия».

Полученные статистические характеристики ВЛК (\bar{X} кп, σ) используются для построения контрольной карты.

Контрольная карта представляет собой систему координат, на оси абсцисс которой откладываются дни исследований, а на оси ординат КП. Через ось ординат параллельно оси абсцисс проводят прямую, обозначающую среднюю арифметическую величину (\bar{X} кп), а вверх и вниз от этой прямой чертят параллельные линии, обозначающие контрольные пределы (\bar{X} кп $\pm 2\sigma$).



После выявления и устранения источника выявленной погрешности необходимо повторить последние исследования. Выявление и устранение отклонений от стабильного выполнения теста в лаборатории является целью внутрилабораторного контроля качества.

На контрольной карте, построенной по установочной серии измерений, вычерчивается график, на оси абсцисс которого

III стадия – оперативный внутрилабораторный контроль

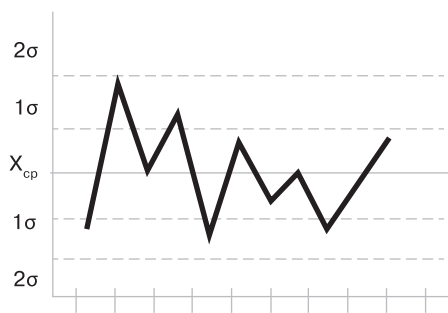
При ежедневной постановке ИФА следует проводить по 1-2 измерения ВЛК, считать среднее значение КП ВЛК и отмечать в виде точки на контрольной карте.

Двойное среднеквадратичное отклонение ($\pm 2\sigma$) обычно считают пределом точности анализа при использовании тест-систем одной серии. Если одно из полученных значений КП ВЛК превышает пределы $\pm 2\sigma$, то можно говорить о случайной ошибке, допущенной при постановке ИФА, если же два (и более) значения КП ВЛК лежат вне контрольных пределов, ошибку следует классифицировать как систематическую.

Оценку сходимости, воспроизводимости результатов и оперативный внутрилабораторный контроль следует осуществлять на одной серии тест-системы.

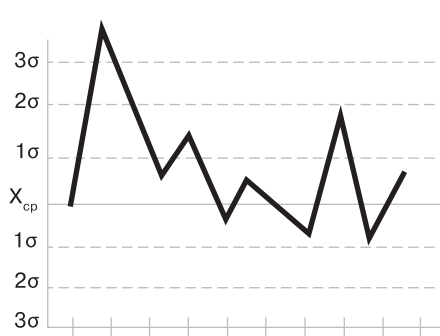
откладываются номера измерений аналитической серии (или дата ее выполнения), а на оси ординат - значения определяемого показателя в контрольном материале. Параллельно оси абсцисс проводится линия, соответствующая средней арифметической величине $X_{ср}$. и отмечаются линии, соответствующие контрольным пределам, рассчитываемые исходя из величины среднеквадратичного отклонения (как указано выше).

Надежные результаты



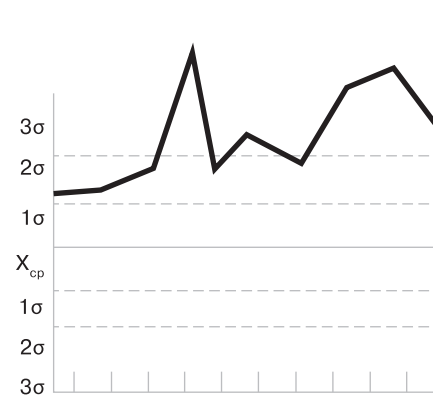
Дни исследования

Случайные ошибки



Дни исследования

Систематические ошибки



Дни исследования

Различают следующие виды допускаемых ошибок, искажающих результат.

1. Грубая ошибка – одиночное значение исследуемого образца, выходящее за допустимые пределы погрешности. Причины – недостаточная тщательность в работе.

2. Систематическая ошибка – погрешность одинаковая по знаку, вызванная определенными постоянными причинами. Возникает при не откалиброванных дозаторах, некачественной промывке, несоблюдении температурных и временных режимов.

Прецизионность аналитической методики обычно характеризуют отклонением, стандартным отклонением или относительным стандартным отклонением для серии измерений.

На изменчивость результата анализа могут оказывать влияние различные факторы: время (интервал времени между измерениями), калибровка, оператор, оборудование, параметры окружающей среды и др.

Ниже изложен набор правил, рекомендуемый в настоящее время при работе с контрольными картами Шухарта.

В качестве «тревожных признаков» используются следующие правила:

1) **1 (2 σ)** – последняя точка лежит выше контрольного предела ($\bar{X}_{ср}+2\sigma$) или ниже контрольного предела ($\bar{X}_{ср}-2\sigma$).

2) **2 (1 σ)** – две или три последовательных точки, включая последнюю, лежат выше контрольного предела ($\bar{X}_{ср}+2\sigma$) или ниже контрольного предела ($\bar{X}_{ср}-2\sigma$);

3) **7 (Хср)** – семь или более последовательных точек, включая последнюю, лежат выше (или ниже) среднего значения (Хср);

4) **4D** – каждая из четырех и более последовательных точек, включая последнюю, лежит выше (положительный дрейф) или ниже (отрицательный дрейф) предыдущей.

Появление любого из этих признаков указывает на возможность выхода процесса измерений из-под контроля.

Следующие «контрольные признаки» (правила Вестгарда) рассматриваются в случае появления тревожного признака 1 (2 σ):

5) **1 (3 σ)** – последняя точка лежит выше контрольного предела ($\bar{X}_{ср}+3\sigma$) или ниже контрольного предела ($\bar{X}_{ср}-3\sigma$).

6) **2 (2 σ)** – два последовательных результата, включая последнюю точку, лежат выше контрольного предела ($\bar{X}_{ср}+2\sigma$) или ниже контрольного предела ($\bar{X}_{ср}-2\sigma$);

7) **D(4 σ)** – разность между последней и предыдущей точками по абсолютной величине превышает 4 σ ;

8) **4(1 σ)** – четыре последовательных точки, включая последнюю, лежат выше контрольного предела ($\bar{X}_{ср}+1\sigma$) или ниже контрольного предела ($\bar{X}_{ср}-1\sigma$);

9) **10 (Хср)** – десять последовательных точек, включая последнюю, лежат выше (или ниже) среднего значения Хср

Если хотя бы один из этих признаков выявлен, то процесс измерений вышел из-под контроля. Необходимо повторить последние исследования после выявления и устранения источника выявленной погрешности. Выявление и устранение отклонений от стабильного выполнения теста в лаборатории является целью внутрилабораторного контроля качества.

Потребители нашей продукции всегда могут рассчитывать на профессиональные консультации специалистов и безотлагательную реакцию на все вопросы, касающиеся качества готовой продукции. В случае возникновения вопросов по продукту потребители могут обратиться в службу поддержки: help-ds@npods.ru, (831) 467-82-15 (добавочный 7655, 7626), бесплатная линия связи 8-800-555-03-00.

Основные нормативные правовые акты Российской Федерации, рекомендуемые для использования в клиничко-диагностических лабораториях при планировании и осуществлении внутрилабораторного контроля качества (по состоянию на 31.08.2017 г.)

№ п/п	Название документа	Краткое описание	Статус
1	Приказ МЗ РФ от 02.02.2000 г. №45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований»	Включает: Прил. 1 – Положение об организации управления качеством клинических лабораторных исследований; Прил. 2 – Правила ВЛК качества количественных лабораторных исследований; Прил. 3 – Временные нормы точности клинических лабораторных исследований	Действует
2	Приказ МЗ РФ от 26.05.2003 г. №220 «Об утверждении отраслевого стандарта Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов» (вместе с ОСТ 91500.13.01-2003)	Приказ утверждает ОСТ 91500.13.01-2003 (прил. 1); ОСТ устанавливает единый порядок внутрилабораторного контроля качества количественных исследований, выполняемых в клиничко-диагностических лабораториях, медицинских организациях, в составе которых действуют указанные лаборатории. ОСТ содержит принципы, правила, порядок проведения ВЛК с использованием контрольных материалов; Прил. 2,3,4 – регистрационные формы учета результатов ВЛК.	Действует

№ п/п	Название документа	Краткое описание	Статус
3	<p>ГОСТ Р ИСО 5725-2002 – Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений; дата введения 01.11.2002.</p> <p>Включает шесть частей: ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 ГОСТ Р ИСО 5725-2-2002 ГОСТ Р ИСО 5725-3-2002 ГОСТ Р ИСО 5725-4-2002 ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002</p>	<p>Содержит общие принципы планирования межлабораторных исследований, детально описывает основной алгоритм количественной оценки прецизионности методов измерений в повседневной практике.</p> <p>ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 – Часть 1. – Основные положения и определения;</p> <p>ГОСТ Р ИСО 5725-2-2002 – Часть 2. – Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений»;</p> <p>ГОСТ Р ИСО 5725-3-2002 – Часть 3. – Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений;</p> <p>ГОСТ Р ИСО 5725-4-2002 – Часть 4. – Основные методы определения правильности стандартного метода измерений;</p> <p>ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002 – Часть 5. – Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений;</p> <p>ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 – Часть 6. – Использование значений точности на практике.</p>	<p>Действует</p>
4	<p>ГОСТ Р 53022-2008 – Национальный стандарт Российской Федерации. Технологии лабораторные клинические. «Требования к качеству клинических лабораторных исследований, дата введения 01.01.2010.</p> <p>Включает четыре части: ГОСТ Р 53022.1-2008 ГОСТ Р 53022.2-2008 ГОСТ Р 53022.3-2008 ГОСТ Р 53022.4-2008</p>	<p>ГОСТ Р 53022.1-2008 – Часть 1. – Правила менеджмента качества клинических лабораторных исследований – стандарт устанавливает общие положения, принципы и единые правила деятельности органов управления здравоохранением на всех уровнях по планированию, обеспечению, контролю и улучшению качества лабораторных исследований, выполняемых в КДЛ медицинских организаций всех форм собственности;</p> <p>ГОСТ Р 53022.2-2008 – Часть 2. – Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность) – стандарт устанавливает единые требования при оценке правильности, прецизионности, чувствительности, специфичности клинических лабораторных исследований, выполняемых в КДЛ медицинских организаций. Соблюдение этих требований обеспечивает уровень аналитической надежности результатов лабораторных исследований, необходимый для уверенного использования этих результатов при принятии клинических решений;</p> <p>ГОСТ Р 53022.3-2008 – Часть 3. – Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов - стандарт устанавливает единые правила оценки клинической информативности лабораторных исследований, выполняемых в КДЛ медицинских организаций в целях оценки состояния здоровья, клинической диагностики и слежения за эффективностью лечения пациентов;</p> <p>ГОСТ Р 53022.4-2008 – Часть 4. – Правила разработки требований к своевременности предоставления лабораторной информации - стандарт устанавливает единые правила разработки требований к срокам выполнения клинических лабораторных исследований в КДЛ и порядок их применения при организации лабораторного обеспечения деятельности медицинских организаций.</p>	<p>Действует</p>

№ п/п	Название документа	Краткое описание	Статус
5	<p>ГОСТ Р 53133 - 2008 – Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований, дата введения 01.01.2010.</p> <p>Включает четыре части: ГОСТ Р 53133.1-2008 ГОСТ Р 53133.2-2008 ГОСТ Р 53133.3-2008 ГОСТ Р 53133.4-2008</p>	<p>ГОСТ Р 53133.1—2008 – Часть 1. – Пределы допускаемых погрешностей результатов измерения аналитов в КДЛ - стандарт устанавливает пределы допускаемых значений внутрилабораторных погрешностей измерений аналитов состава сыворотки крови и мочи, выполняемых в медицинских организациях в диагностических целях. Указанные пределы применяются в целях оценки приемлемости точности используемых методик этих измерений в контрольных образцах сыворотки крови и мочи при проведении ВЛК и вводятся как единые для всех видов КДЛ медицинских организаций страны вне зависимости от их типа, ведомственной подчиненности и формы собственности;</p> <p>ГОСТ Р 53133.2—2008 – Часть 2. – Правила проведения ВЛК количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов – стандарт устанавливает общие требования к проведению ВЛК количественных исследований, выполняемых в КДЛ, организациях здравоохранения, в составе которых действуют указанные лаборатории;</p> <p>ГОСТ Р 53133.3-2008 – Часть 3. – Описание материалов для контроля качества клинических лабораторных исследований – стандарт устанавливает требования к материалам, предназначенным для контроля качества клинических лабораторных исследований, выполняемых в КДЛ медицинских организаций всех форм собственности;</p> <p>ГОСТ Р 53133.4-2008 – Часть 4. – Правила проведения клинического аудита эффективности лабораторного обеспечения деятельности медицинских организаций – стандарт устанавливает единые принципы и правила при проведении в медицинских организациях всех форм собственности лабораторными специалистами и клиницистами совместной оценки качества обеспечения лабораторной информацией лечебно-диагностического процесса и ее использования для совершенствования медицинской помощи.</p>	Действует
6	<p>ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009. Межнародный стандарт. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий, дата введения в РФ 01.01.2012.</p>	<p>Настоящий стандарт устанавливает общие требования к качеству и компетентности лабораторий в проведении испытаний и/или калибровки, включая отбор образцов, испытания и калибровку, проводимые по стандартным методикам, нестандартным методикам и методикам, разработанным лабораторией. Стандарт применим для всех организаций, осуществляющих испытания и/или калибровку.</p>	Действует
7	<p>ГОСТ Р ИСО 15189-2015 – Национальный стандарт Российской Федерации. Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности, дата введения 01.06.2016.</p>	<p>Стандарт устанавливает специальные требования к качеству и компетентности медицинских лабораторий; может быть использован медицинскими лабораториями для разработки своих систем менеджмента качества и для оценки собственной компетентности. Стандарт может также быть использован для подтверждения или оценки компетентности медицинских лабораторий пользователями лабораторных услуг, регулирующими органами власти и органами аккредитации.</p>	Действует
8	<p>ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 – Национальный стандарт Российской Федерации. Статистические методы. Контрольные карты. – Часть 2. Контрольные карты Шухарта; дата введения 01.12.2016.</p>	<p>В настоящем стандарте установлены основные положения по применению и интерпретации контрольных карт Шухарта и соответствующих методов статистического управления процессами.</p>	Действует

Нормативные документы

Нормативно-правовые документы в сфере здравоохранения Российской Федерации, содержащие разделы, касающиеся лабораторной диагностики гепатитов В и С (по состоянию на 30.11.2017г.)

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов	Статус
1	Приказ Минздрава СССР от 12.07.1989 №408 «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране» (вместе с Методическими указаниями – приложения 1-4)	Приложение 2 «Методические указания (МУ) «Эпидемиология и профилактика вирусных гепатитов с парентеральным механизмом передачи возбудителя» – содержит вопросы лабораторной диагностики парентеральных гепатитов; Приложение 4 МУ. «Клиника, диагностика, лечение и исходы вирусных гепатитов у взрослых и детей (специфическая диагностика при помощи методов ИФА, РИА, РОПГА)	Действует
2	Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.958-00 «Профилактика вирусных гепатитов. Общие требования к эпидемиологическому надзору за вирусными гепатитами.» (Утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 01.02.2000)	СП устанавливают основные требования к комплексу организационных, лечебно-профилактических, гигиенических и противоэпидемических мероприятий, проведение которых обеспечивает предупреждение распространения заболеваний вирусными гепатитами. Содержат информацию по определению маркеров различных гепатитов (А, В, С, Д, Е) у больных, контактных, носителей HBsAg; а также перечень контингентов, подлежащих обязательному обследованию на HBsAg и анти-ВГС методом ИФА.	Действует
3	Приказ Минздрава РФ 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»	Приказ содержит рекомендации по применению ИФА тест-систем разных производителей для выявления HBsAg и АТ к ВГС и некоторые запрещающие меры (такие как: использование тест-систем с чувствительностью хуже 0,1 МЕ/мл; тест-систем, содержащих неполный спектр структурных и неструктурных белков ВГС, постановку окончательного лабораторного диагноза без подтверждения в одном из подтверждающих тестов; использование ИФА тест-систем, не имеющих разрешения Минздрава РФ на применение)	Действует
4	Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 18.05.2010 №58 (ред. от 10.06.2016) « Об утверждении СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность» (Зарегистрировано в Минюсте России 09.08.2010 №18094)	Раздел III - Профилактика внутрибольничных инфекций в стационарах (отделениях) хирургического профиля; Раздел IV – Профилактика ВБИ в акушерских стационарах (отделениях) — содержит положения, касающиеся необходимости и периодичности обследования медицинских работников на гепатиты В и С.	Действует
5	Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.02.2008 №14 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.1.2341-08 "Профилактика вирусного гепатита В" (Зарегистрировано в Минюсте России 26.03.2008 №11411)	Раздел IV. Лабораторная диагностика гепатита В (исследования на наличие серологических маркеров, обязательное использование сертифицированных и стандартизованных диагностических наборов, разрешенных к применению в РФ в установленном порядке); Раздел V. Выявление больных гепатитом В (серологический скрининг групп людей с высоким риском заражения (приложение 1 «Группы людей, подлежащих обязательному обследованию на HBsAg методом ИФА»); периодичность обследования на HBsAg доноров крови, костного мозга, спермы и других тканей.	Действует
6	МУ 3.1.2943-11. 3.1 «Профилактика инфекционных болезней. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В) Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 15.07.2011)	Изложены основные принципы организации и осуществления серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к вакциноуправляемым инфекциям (в том числе гепатит В); Включает «Порядок сбора, транспортирования и хранения сывороток крови для исследований» (приложение 1); основные методы исследования сывороток, рекомендуемые «индикаторные группы» лиц (табл. 1, 2) Исследование сывороток для выявления АТ к ВГВ – при помощи ИФА; оценка состояния коллективного иммунитета к гепатиту В у взрослых проводится без учета данных о прививках. Защищенными являются лица, в сыворотке крови которых определяются АТ к HBsAg в концентрации 10 МЕ/л и более. Среди привитых против гепатита В процент лиц с концентрацией антител менее 10 МЕ/л не должен превышать 10%.	Действует

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов	Статус
7	<p>МУ 3.1.2792-10.3.1. «Профилактика инфекционных болезней. Эпидемиологический надзор за гепатитом В» Методические указания» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 20.12.2010)</p>	<p>П.5. Лабораторная диагностика гепатита В и интерпретация результатов – включает определение серологических маркеров вируса, критерии лабораторной диагностики острого и хронического гепатита В, носительства HBsAg; использование тест-систем, основанных на разных методах – ИФА, ХЛА, ПЦР)</p>	<p>Действует</p>
8	<p>Постановление Правительства РФ от 31.12.2010 №1230 «Об утверждении правил и методов исследований и правил отбора образцов донорской крови, необходимых для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности донорской крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии»</p>	<p>Настоящий документ устанавливает правила и методы исследований и правила отбора образцов донорской крови, необходимые для применения и исполнения технического регламента о безопасности крови и ее продуктов.</p> <p>П.10 – Методы для выявления маркеров гепатитов В и С – иммунологические (ИФА, ИХЛА) и молекулярно-биологические (метод тестирования нуклеиновых кислот, метод мультиплексного анализа);</p> <p>П.11. Правила, которые необходимо соблюдать при определении маркеров вирусов гепатитов В и С: - образцы крови доноров исследуют на наличие HBsAg и антител к ВГС, - допускается проведение исследования с целью одновременного определения наличия антител к ВГС и антигена ВГС; - первое иммунологическое исследование на маркеры ВГВ и ВГС проводится в единичной постановке, - при получении положительного результата анализа исследование повторяют 2 раза с сохранением условий первой постановки, включая реагенты, - при получении хотя бы одного положительного результата при повторном тестировании на маркеры ВГС исследуемый образец донорской крови признается положительным и подлежит исследованию в подтверждающем тесте для постановки лабораторного диагноза;</p> <p>П.12. Молекулярно-биологические исследования проводятся дополнительно (до, после, одновременно) к обязательным иммунологическим исследованиям на маркеры ВГВ и ВГС в соответствии с правилами, описанными в данном документе;</p> <p>П.13. Правила отбора образцов донорской крови для исследований на маркеры ВГВ и ВГС, их транспортировки, центрифугирования и временного интервала после взятия крови для иммунологических методов (не ранее, чем через 18 ч.)</p>	<p>Действует</p>
9	<p>Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 22.10.2013 №58 "Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3112-13 "Профилактика вирусного гепатита С" (Зарегистрировано в Минюсте России 19.03.2014 №31646)</p>	<p>Раздел III. Лабораторная диагностика гепатита С. – Прописан алгоритм лабораторных исследований при помощи серологических (определение антител к ВГС) и молекулярно-биологических методов (определение РНК ВГС) исследования;</p> <p>Приложение 1. СП - Контингенты лиц, подлежащие обязательному обследованию на anti-HCV IgG; Приложение 2. СП - Контингенты, подлежащие обязательному обследованию на наличие anti-HCV IgG и РНК ВГС;</p> <p>П. 3.12. Диагностика гепатита С у детей до 12 мес., рожденных от инфицированных ВГС матерей (в соответствии с п. 7.6 данных СП);</p> <p>П. 3.14. Включает рекомендации и области применения экспресс-тестов (определение антител к ВГС в слюне);</p> <p>Раздел IX. Включает положения по обследованию на ГС доноров крови и других биоматериалов; Раздел X. Содержит положения, касающиеся обследования беременных женщин на ВГС-инфекцию (сроки - 1 и 3 триместры беременности, ведение беременных с подтвержденным диагнозом ОГС и ХГС)</p>	<p>Действует</p>

СПИСОК АББРЕВИАТУР

АГ	антиген	ИХА	иммунохроматографический анализ
АИГ	аутоиммунный гепатит	КП	коэффициент позитивности
АЛТ	аланинаминотрансфераза	МКА	моноклональные антитела
АСТ	аспартатаминотрансфераза	ОП	оптическая плотность
АТ	антитело	ОР	относительный риск/отношение рисков
Анти-НВс	антитела к сердцевинному антигену вируса гепатита В	ОШ	отношение шансов
Анти-НВе	антитела к е-антигену вируса гепатита В	сОШ	скорректированное отношение шансов
Анти-НВs	антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В	ПВТ	противовирусная терапия
ВГВ (HBV)	вирус гепатита В	ППЗ/ППЦ	положительная прогностическая значение/ценность
ВГС (HCV)	вирус гепатита С	ПТГ	посттрансфузионный гепатит
ВИЧ (HIV)	вирус иммунодефицита человека	ПЦР	полимеразная цепная реакция
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения	РНК	рибонуклеиновая кислота
ВПГ	вирус простого герпеса	СПИД	синдром приобретенного иммунодефицита
ГВ	гепатит В	ТИМР	трансмиссия инфекции от матери к ребенку
ГС	гепатит С	ХЗП	хронические заболевания печени
ГЦК	гепатоцеллюлярная карцинома	ЦМВ	цитомегаловирус
ДИ	доверительный интервал	ЦМВИ	цитомегаловирусная инфекция
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота	ЦНС	центральная нервная система
ЗНО	злокачественные новообразования	СДС (Centers for Disease Control)	Центр по контролю и профилактике заболеваний, США
ИГГВ	иммуноглобулин против гепатита В	НВсAg	винный антиген вируса гепатита В
ИФА	иммуноферментный анализ	НВеAg	е - антиген вируса гепатита В
ИФН	интерферон	НВsAg	поверхностный антиген вируса гепатита В
		NAT (nucleic acid amplification technologies)	технология амплификации нуклеиновых кислот

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Нижний Новгород

**Центральный офис
ООО «НПО «Диагностические системы»:**

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

Служба поддержки клиентов:
тел.(831) 467-82-18 (доб. 7655, 7626)
E-mail: help-ds@npods.ru

Представительства

Москва	Диагностические системы—Столица 123317, г. Москва, Пресненская наб, д.12, Деловой комплекс "Федерация", Башня "Восток", 29-й этаж тел. (495) 653-81-31, 653-81-32 ds-stolica@bk.ru
Санкт-Петербург	Диагностические системы—СПб 194156, г. Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 33/1, офис Т304 тел/факс (812) 331-72-82 info@spb-npods.ru
Красноярск	ООО "Диагностические системы—Сибирь" 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 16 д тел./факс (3912) 54-16-55, 54-17-58, 78-19-83 sbit@ds-s.ru
Екатеринбург	ООО "Диагностические системы—Урал" 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 12, стр. 22, вход 10 отдел продаж: (343) 272-33-08 ds-ural@npods.ru
Украина	ООО "Диагностические системы—Украина" 04107, Украина, г. Киев, ул. Баггоутовская, 8/10, тел. +38044-361-55-76 ua@npods.ru
Казахстан	ТОО "FORTIS PAI" (ФОРТИС ПАЙ) 050019, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Чаплина, 71, оф. 2, тел. факс +7-727-234-46-44, +7-727-231-05-12 sales@fortispai.ru www.fortispai.kz
Узбекистан	ООО "INSEP" 100090, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. М. Таробий, 29 А, тел. +99871-254-00-26, тел./факс +99871-254-07-05, insep@inbox.ru www.insep.uz