

© Коллектив авторов, 2015
УДК 615.38(476)

Г. Я. Хулуп
докт. мед. наук

Ж. В. Пешняк
канд. мед. наук

Э. В. Дашкевич
канд. мед. наук

Т. С. Коржель

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск (Беларусь)

Методические подходы к изучению уровня противогерпесных антител у доноров республики Беларусь

В настоящее время герпес-вирусная инфекция является одной из социально значимых проблем в мире. Впервые в трансфузиологической практике Республики Беларусь разрабатываются методические подходы по выявлению высоких титров противогерпесных антител у доноров для получения гипериммунной донорской плазмы с целью профилактики и лечения герпетической инфекции. Для этого сыворотка 420 доноров обследована методом иммуноферментного анализа на наличие антител класса IgG к клинически значимым типам вируса герпеса. Из числа обследованных отобраны около 45–50 % доноров с высокими титрами противогерпесных антител для включения в базу данных доноров гипериммунной противогерпетической плазмы.

Ключевые слова: герпес-вирусная инфекция, доноры крови и компонентов крови, титры противогерпесных антител, гипериммунная противогерпетическая плазма

В мире более 90 % людей являются носителями вируса герпеса. Семейство вируса герпеса *Herpesviridae* включает несколько патогенных для человека типов. К клинически значимым типам вируса герпеса относятся: вирус простого герпеса 1-го и 2-го типа, вирус ветряной оспы — опоясывающего герпеса, цитомегаловирус и вирус Эпштейна–Барр [1, 2].

По данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (Минск), заболеваемость герпетической инфекцией в Республике Беларусь с 1996 по 2006 г. выросла в 3,56 раза с $4,37 \pm 0,206$ до $15,56 \pm 0,401$ на 100 тыс. населения [3]. Такая динамика, возможно, связана с улучшением качества диагностики герпетической инфекции. За исследуемый период от последней умерли 43 человека, причем 40 из них — от генерализованной формы заболевания.

Проблема профилактики и лечения герпетической инфекции весьма актуальна и ее решение требует комплексного подхода. Современная медицина не располагает методами

лечения, позволяющими элиминировать вирус герпеса из организма человека. Поэтому целью лечения является подавление репродукции инфекционного агента в период обострения, формирование адекватного иммунного ответа и его длительное сохранение для блокирования реактивации вируса герпеса в очагах персистенции [4]. Одним из перспективных подходов к профилактике и лечению герпес-вирусных инфекций является применение препаратов иммуноглобулина человека [5, 6]. Их использование показано в клинической практике на ранних стадиях острых и рецидивирующих герпес-вирусных инфекций (для лечения герпетического энцефалита, диссеминации инфекции, снижения активности процесса, специфической «дезинтоксикации»), а также для профилактики их развития [7]. Защитное действие герпесспецифических антител связывают как с их непосредственным участием в нейтрализации вирусных частиц, так и с активацией ими комплемент-опосредованного лизиса и антитело-зависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности в отношении инфицированных вирусом герпеса клеток.

Данные об уровне противогерпесных антител у доноров крови и компонентов крови Республики Беларусь отсутствуют. Для получения такой

Жанна Витальевна Пешняк
e-mail: jannapeshnyak@tut.by

информации необходима разработка и внедрение в организации службы крови целенаправленных организационно-методических подходов по отбору доноров с высоким уровнем противогерпесных антител для получения гипериммунной противогерпетической плазмы.

Цель — разработка организационно-методических подходов к изучению уровня противогерпесных антител у доноров крови и ее компонентов к наиболее патогенетически значимым в клиническом плане типам вируса герпеса для создания базы данных доноров с высокими титрами противогерпесных антител.

Материалы и методы

В РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск) обследована сыворотка крови у 420 доноров мужского пола 18–35 лет на наличие антител класса *IgG* к вирусам простого герпеса 1-го и 2-го типа, к цитомегаловирусу, к раннему антигену *EA* (*Early antigen*) вируса Эпштейна–Барр, к капсидному антигену *VCA* (*Viral capsid antigen*) вируса Эпштейна–Барр и к вирусу ветряной оспы — опоясывающего герпеса (*Varicella zoster*). Для получения сыворотки кровь брали в полистирольные пробирки с шариками без консерванта «Sarstedt» (Германия).

Исследования проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов, зарегистрированных для клинико-диагностического применения в Республике Беларусь. Определение антител класса *IgG* к вирусу простого герпеса 1-го типа проводили согласно инструкции по применению набора реагентов «ИФА-ВПП-1-IgG» (Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса *G* к вирусу простого герпеса 1-го типа), ЗАО «ЭКОлаб» (РФ). Определение антител класса *IgG* к вирусу простого герпеса 2-го типа проводили согласно инструкции по применению набора реагентов «ДС-ИФА-Анти-ВПП-2-G» (Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса *IgG* к вирусу простого герпеса 2-го типа, набор диагностический), НПО «Диагностические системы» (РФ). Определение антител класса *IgG* к цитомегаловирусу проводили согласно инструкции по применению «ЦМВ-IgG-ИФА-БЕСТ» (Набор реагентов для иммуноферментного количественного и качественного определения иммуноглобулинов класса *G* к цитомегаловирусу в сыворотке (плазме) крови), ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ» (РФ), а также набора реагентов «ИФА-ЦМВ-IgG» (Тест-система иммуноферментная

для выявления иммуноглобулинов класса *G* к цитомегаловирусу), ЗАО «ЭКОлаб» (РФ). Определение антител класса *IgG* к раннему антигену *EA* вируса Эпштейна–Барр проводили согласно инструкции по применению «ВектоВЭБ-ЕА-IgG» (Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса *G* к раннему антигену *EA* вируса Эпштейна–Барр в сыворотке (плазме) крови), ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ» (РФ). Определение антител класса *IgG* к капсидному антигену *VCA* вируса Эпштейна–Барр проводили согласно инструкции по применению набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G» (Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса *IgG* к капсидному антигену (*VCA*) вируса Эпштейна–Барр, набор диагностический), НПО «Диагностические системы» (РФ). Определение антител класса *IgG* к вирусу *Varicella zoster* проводили согласно инструкции по применению «ИФА для качественного и количественного определения антител класса *IgG* к вирусу *Varicella zoster* в сыворотке и плазме человека» («IBL INTERNATIONAL GMBH», Германия).

За высокий уровень противогерпесных антител класса *IgG* принимали значения в 5–10 раз выше минимального, при котором выявляются антитела в используемой тест-системе.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Excel (Microsoft, США).

Результаты и обсуждение

В настоящее время донорскую кровь в обязательном порядке обследуют серодиагностические лаборатории службы крови как в Республике Беларусь, так и Российской Федерации на наличие антител к вирусам гепатита *C*, бледной трепонеме, на ВИЧ-1 и -2, на поверхностный антиген вируса гепатита *B* (*HBs*-антиген) [8]. Если антитела и антигены к данным инфекциям отсутствуют, то доноры допускаются к сдаче крови. Согласно действующему Постановлению МЗ Республики Беларусь от 19.05.2011 № 37 «Об установлении перечня заболеваний и состояний, при которых сдача крови и ее компонентов противопоказана, и утверждении Инструкции о порядке медицинского осмотра доноров крови и ее компонентов, Инструкции о порядке учета доноров крови и ее компонентов» [9], герпес-вирусная инфекция не входит в «Перечень заболеваний и состояний, при которых сдача крови и ее компонентов противопоказана». Были разработаны

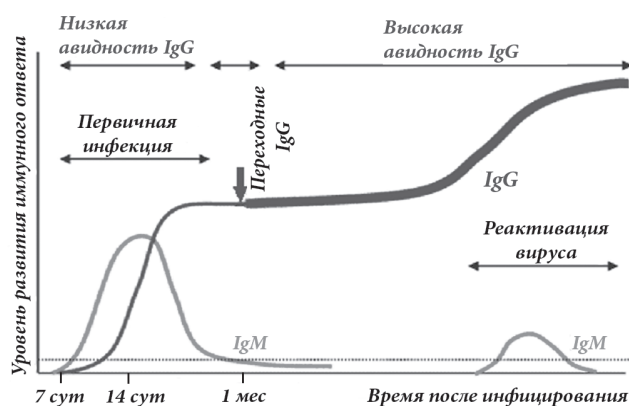


Рис. 1. Развитие иммунного ответа при герпетической инфекции [10]

организационно-методические аспекты включения доноров крови и компонентов крови с высокими титрами противогерпесных антител в базу данных доноров Республики Беларусь.

В дополнение к пункту 10 действующей «Инструкции о порядке медицинского осмотра доноров крови и ее компонентов» [9], в котором сказано, что «врач-специалист организации переливания крови при проведении медицинского осмотра донора собирает подробный анамнез и опрашивает донора в соответствии с требованиями карты-анкеты донора», для углубленного сбора анамнеза по перенесенной герпетической инфекции была разработана «Анкета донора крови и ее компонентов для выявления высоких титров противогерпесных антител с целью получения гипериммунной противогерпетической плазмы». При положительных ответах на вопросы данной анкеты кровь донора направляется врачом-специалистом на дополнительное исследование на наличие противогерпесных антител. Также на основании вышеуказанных

нормативно-правовых документов Республики Беларусь была разработана «Форма учета доноров гипериммунной противогерпетической плазмы». Данная форма включает анкету донора (мужского пола, преимущественно в 18–35 лет), оценку клинико-лабораторных показателей, дополнительное серологическое обследование доноров на наличие противогерпесных антител класса *IgG* методом ИФА, журнал учета доноров, протестированных на наличие противогерпесных антител, включение в компьютерную базу данных доноров с высоким уровнем противогерпесных антител.

Для серологического обследования доноров для определения уровня противогерпесных антител был определен метод ИФА по выявлению вторичных антител иммунного ответа класса *IgG*, сохраняющихся у здоровых лиц пожизненно после первичного инфицирования.

Ранние вирус-специфические *IgG*-антитела, образующиеся при первичном инфицировании, обладают низкой авидностью. С течением времени (после перенесенной инфекции или в случае обострения (реактивации) инфекции) авидность антител повышается (рис. 1).

Разработан алгоритм отбора доноров крови и ее компонентов с высокими титрами противогерпесных антител (рис. 2). Выполнение этапов данного алгоритма позволит создать базу данных доноров гипериммунной противогерпетической плазмы.

Проведены исследования у 420 доноров крови и ее компонентов в РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий по выявлению противогерпесных антител класса *IgG* к вирусам простого герпеса 1-го и 2-го типа, к цитомегаловирусу, к раннему антигену EA и к капсидному антигену VCA вируса Эпштейна–Барр, к вирусу ветряной оспы — опоясывающего герпеса (таблица).

В результате исследований установлено наличие противогерпесных антител класса *IgG* к вирусу простого герпеса 1-го типа у 81,7% доноров, из них 50,3% имели высокие титры антител (более 1:1280). К вирусу простого герпеса 2-го типа антитела класса *IgG* были определены у 62,2% обследованных доноров, причем 42,8% из них имели высокий уровень антител (более 1:320). Антите-



Рис. 2. Алгоритм отбора доноров для получения гипериммунной противогерпетической плазмы

**Выявление противогерпесных антител класса *IgG* у доноров крови и ее компонентов
в РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий**

Противогерпесные антитела класса <i>IgG</i>	Количество положительных результатов	Количество отрицательных результатов
К вирусу простого герпеса 1-го типа	81,7% (291/356), из них 50,3% (179/356) доноров с высоким уровнем антител	16% (57/356); у 2,2% (8/356) сомнительный результат
К вирусу простого герпеса 2-го типа	62,2% (224/360), из них 42,8% (154/360) доноров с высоким уровнем антител	37,8% (136/360)
К цитомегаловирусу	80,2% (337/420), из них 44,8% (188/420) доноров с высоким уровнем антител	19,8% (83/420)
К раннему антигену <i>EA</i> вируса Эпштейна–Барр	4,2% (7/167)	95,8% (160/167)
К капсидному антигену <i>VCA</i> вируса Эпштейна–Барр	90% (243/270), из них 54,4% (147/270) доноров с высоким уровнем антител	10% (27/270)

ла класса *IgG* к цитомегаловирусу выявлены у 80,2% доноров, из них у 44,8% отмечен высокий уровень антител (более 4 PE/мл).

Установлено практически полное отсутствие у обследованных доноров антител класса *IgG* к раннему антигену *EA* вируса Эпштейна–Барр (выявлены у 7 (4,2%) из 167 обследованных доноров). Ввиду того, что *IgG*-антитела к раннему антигену вируса Эпштейна–Барр выявляются на ранней стадии инфекционного процесса (максимальную их концентрацию в сыворотке крови наблюдают на 2-й неделе заболевания, и далее в течение 3–5 мес она постепенно снижается до нуля), полученные данные позволяют предположить у обследованных доноров отсутствие недавнего инфицирования этим типом вируса. Однако у 90% (243/270) доноров определены антитела класса *IgG* к капсидному антигену (*VCA*) вируса Эпштейна–Барр, сохраняющиеся пожизненно после первичного инфицирования, причем у 54,4% доноров выявлен высокий уровень данных антител (ОП \geq 2 опт.ед.). Антитела класса *IgG* к вирусу ветряной оспы — опоясывающего герпеса были выявлены у 83,3% доноров, из них у 48,9% определен высокий уровень данных антител.

Таким образом, в результате обследования выявлено, что примерно у 80% доноров имеются антитела класса *IgG* к вирусу простого герпеса 1-го типа, цитомегаловирусу, к капсидному антигену вируса Эпштейна–Барр, к вирусу *Varicella zoster*, причем около 45–50% из обследованных имеют высокие титры данных антител. Следует отметить, что при выявлении антител класса *IgG* отрицательный результат

к исследуемым типам герпеса встречался у 10–19,8% из числа обследуемых доноров. Выявление серонегативных доноров также важно ввиду рекомендаций Совета Европы (2011 г.) о введении «скрининга сдачи крови на анти-ЦМВ-АТ и создания панели анти-ЦМВ отрицательных результатов для использования у больных с высокой восприимчивостью» [11].

Выводы

В рамках методических подходов и с учетом действующих нормативных документов Республики Беларусь разработаны анкета, форма учета и алгоритм для отбора доноров крови и ее компонентов с высокими титрами противогерпесных антител для создания базы данных доноров гипериммунной противогерпетической плазмы, необходимой для включения в комплексную терапию герпетической инфекции и последующего получения сырья для производства противогерпетического иммуноглобулина в Республике Беларусь. Проведенные исследования установили неоднородность качественного и количественного (наличие высоких и низких титров) состава противогерпесных антител у обследованных доноров. Из числа обследованных отобраны около 45–50% доноров с высокими титрами противогерпесных антител для включения в базу данных доноров гипериммунной противогерпетической плазмы. Определены серонегативные к определенным типам вируса герпеса доноры, у которых, учитывая широкую распространенность вируса герпеса, данный статус требует подтверждения при последующих сдачах крови.

Литература

1. Покровская М.С. Герпес-вирусные инфекции — краткий обзор литературы [Электронный ресурс]. 2014. Режим доступа: http://lages-lab.ru/article__4.htm.
2. Чеботкевич В. Н. и др. Герпес-вирусные инфекции и проблемы инфекционной безопасности гемотрансфузий у иммуносупрессивных больных // Трансфузиология. 2012. Т. 13. № 1. С. 22-38.
3. Акулич Н. Ф. и др. Эпидемиологические особенности герпетической инфекции в Республике Беларусь // В сб.: Актуальные вопросы инфекционной патологии: Материалы междунар. Евро-Азиатского конгресса по инфекционным болезням. Витебск, 2008. Т. 1. С. 34-35.
4. Протас И. И. Хронический герпетический энцефалит (клиника, морфология, этиопатогенез): Рук. для врачей. Минск: МЕТ, 2009.
5. Современная терапия герпес-вирусных инфекций: Рук. для врачей / Под ред. В.А. Исакова и др. СПб., 2004. С. 65.
6. Barton S. Setting standards for the development and use of complementary and alternative therapies in herpes // Herpes. 2005. Vol. 12. P. 2-31.
7. Кудин А. П., Германенко И. Г., Астапов А. А. Роль Herpes simplex в патологии человека. Ч. 3. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика герпетической инфекции // Мед. новости. 2004. № 9. С. 3-10.
8. Волкова С. Д. и др. Герпес-вирусная инфекция в клинической практике // Трансфузиология. 2013. Т. 14. № 4. С. 48-56.
9. Об установлении перечня заболеваний и состояний, при которых сдача крови и ее компонентов противопоказана, и утверждении Инструкции о порядке медицинского осмотра доноров крови и ее компонентов, Инструкции о порядке учета доноров крови и ее компонентов: Постановление МЗ Респ. Беларусь от 19.05.2011 № 37. Нац. реестр правовых актов Респ. Беларусь. 2011. № 69. 8/23751.
10. Ковтонюк Г. В., Ганова Л. А., Шепелин К. А. Иммуноферментная тест-система для серодиагностики герпеса 2-го типа // Мед. алфавит. Современная лаборатория. 2013. № 3. С. 58-60.
11. Руководство по приготовлению, использованию и обеспечению качества компонентов крови. Рекомендации Совета Европы, 2011. С. 490.

H. Y. Khulup, J. V. Peshnyak, E. V. Dashkevich, T. S. Korzhel

Republic scientific and practical center of transfusiology and medical biotechnologies, Minsk (Belarus)

Methodical approaches to study of the level of anti-herpes antibodies of donors in Belarus

Herpes infection is considered as an important social problem due to virus contamination of 90 % inhabitants. The approach to the solution of this problem was performed for the first time by the transfusion services of Belarus by producing hyperimmune donor's plasma with antibodies to clinically important viruses. Blood of 420 donors was investigated for antibodies (specific IgG). About 45-50% of the donors were selected in the database of donors of hyperimmune antiherpetic plasma.

Key words: *herpesvirus infection, donors of blood and blood components, titres of anti-herpes antibodies, hyperimmune antiherpetic plasma*