

ДИАГНОСТИКА КОРИ: СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ, ПРОБЛЕМЫ

Раев М. Б.^{1,2}, Храмцов П. В.^{1,2}, Бочкова М. С.¹,
Тимганова В. П.¹, Заморина С. А.^{1,2}

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской Академии наук; ²ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

В статье представлены основные подходы к диагностике кори. Наиболее эффективными современными методами диагностики инфекции являются иммуноферментный, иммунохемилюминисцентный анализ и полимеразная цепная реакция. Разработка более совершенных в части процедурной аранжировки инструментов диагностики, сохраняющих при этом требуемый уровень аналитических характеристик, является одной из ключевых составляющих в стратегии ВОЗ по элиминации кори.

Ключевые слова: диагностика кори, ИФА, ПЦР, иммунохемилюминесценция

Соответствующей программой ВОЗ провозглашен «поход» на борьбу с многочисленными инфекционными заболеваниями вплоть до полной элиминации, в частности, кори. В этом направлении во всем мире разрабатываются и принимаются интенсивные меры. Тем не менее, в разных странах происходят вспышки этого заболевания, а для ряда территорий Африки и Юго-Восточной Азии число заболевших корью и по сей день относительно велико [1]. Своевременное выявление случаев заболевания и дифференциальная диагностика кори является одним из условий для предотвращения эпидемических ситуаций и распространения возбудителя. В статье представлены основные методические подходы к диагностике кори, которые применяются в России и за рубежом.

В настоящее время для диагностики заболевания и выявления вируса кори используют вирусологические, серологические и молекулярно-биологические методы. Вирусологические методы основаны на выделении вируса кори из носоглоточных смывов, крови человека. Для первичной изоляции вируса кори широко применяют клеточную линию Vero/SLAM [2]. Недостатками метода является его использование только в специализированных лабораториях в ограниченных случаях, что связано со сложностью постановки, дли-

тельностью культивирования и дороговизной исследования. Поэтому не рекомендуется использовать этот метод для первичной диагностики инфекции.

Для серологического контроля напряженности иммунитета к кори, как результата мер профилактической вакцинации, а также диагностики самого заболевания, используют ряд вариантов иммуноанализа. Несколько лет назад это была реакция торможения геммагглютинации (РТГА), реакция связывания комплемента (РСК), реакция нейтрализации бляшкообразования (РНБ). В настоящее время в нашей стране, как и в большинстве стран мира применяют иммуноферментный анализ (ИФА), который улавливает весь спектр антител к различным белкам вируса. Он методически отработан, что позволяет его использовать в любой лаборатории. ИФА и РНБ являются высокочувствительными и высокоспецифичными методами диагностики, однако они лишены ряда принципиальных недостатков. Так, РНБ не является легким в применении, так как требует наличие квалифицированного персонала, что сопряжено со значительными экономическими и временными затратами. ИФА более удобен вследствие своей унифицированной процедуры, однако необходимость использования сложного регистрирующего оборудования для его постановки ограничи-

вает его внедрение в развивающихся странах. В качестве антигенов в ИФА может быть использован как целый вирус кори, так и рекомбинантные коревые антигены, в частности гемагглютинин и нейраминидаза. Ранняя диагностика кори базируется на выявлении в сыворотке крови IgM-антител и обладает максимальной эффективностью между 4-м и 28-м днями от момента появления сыпи. Повторное взятие крови для выявления IgG-антител выполняют через 10-14 дней после взятия первого. Нарастание титра специфических IgG-антител в 4 и более раза при одновременном исследовании обеих проб является основанием для постановки диагноза «корь». При этом понятна непривлекательная длительность всего процесса диагностики. Для определения напряженности иммунитета к вирусу кори ВОЗ рекомендует применять выявление IgG-антител в сыворотке крови методом ИФА. Методы серодиагностики, основанные на реакциях торможения гемагглютинации и связывания комплемента в настоящее время не способны конкурировать с ИФА ввиду их меньше чувствительности, громоздкости и трудозатратности.

Хорошо зарекомендовал себя иммунохемилюминисцентный анализ в ряду серодиагностических методов. В зарубежных работах описан автоматизированный вариант этого метода на платформе "Liaison DiaSorin" (Italy) для оценки уровня IgM- и IgG-антител в сыворотке крови больных корью. Чувствительность и специфичность анализа составляла 92% и 100% соответственно. Автоматизированные тесты более специфичны, менее трудоемки и экономически выгодны по сравнению с тестами выполняемыми лаборантами, при этом автоматическая пробоподготовка сывороток крови, позволяет обрабатывать до 18 образцов в час [3].

Кроме вирусологических и серологических методов для диагностики кори используют молекулярно-биологические методы. Для выявления вируса кори применяют метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Наибольшую диагностическую

ценность представляет этот метод в подтверждении диагноза корь в ранние сроки заболевания [4]. Метод высоко специфичен и очень чувствителен, однако требует специальной аппаратуры и обученный персонал с навыками работы.

Описанные примеры диагностических инструментов можно критиковать только с позиции их сомнительного участия в скрининговых исследованиях, способных быстро, доступно и экономически оправданно отслеживать уровень противоинфекционного иммунитета в обществе.

Элиминация вируса кори может быть достигнута лишь при использовании оперативных, высокоспецифичных диагностических методов, в процедурной аранжировке которых отсутствует или минимизирован аппаратный компонент регистрации результатов. Разработка и внедрение таких методов позволит быстро идентифицировать очаг источника заболевания и предотвратить его распространение [5]. Крайне важным является возможность оценивать эффективность профилактических мер.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований УрО РАН, проект № 15-3-4-14.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bester J. C. Measles and Measles Vaccination: A Review. *JAMA Pediatrics*. 2016, 170 (vol.), 1209-1215.
2. Vero/hSLAM Cells for Isolation of Measles Virus. <https://www.cdc.gov/measles/lab-tools/vero-slam.html>
3. De Ory F, Minguito T, Balfagon P, Sanz J. C. Comparison of chemiluminescent immunoassay and ELISA for measles IgG and IgM. *APMIS*. 2015, 123 (vol.), 648-651.
4. Yasui Y, Mori Y, Adachi H, Kobayashi S, Yamashita T, Minagawa H. Detection and genotyping of rubella virus from exanthematous patients suspected of having measles using reverse transcription-PCR. *Jpn. J. Infect. Dis*. 2014, 67 (vol.), 389-391.
5. Holzmann H, Hengel H, Tenbusch M, Doerr H. W. Eradication of measles: remaining challenges. *Med. Microbiol. Immunol*. 2016, 205 (vol.), 201-208.

MEASLES DIAGNOSTICS: PROBLEMS AND MODERN APPROACHES

Rayev M.B.^{1,2}, Khramtsov P.V.^{1,2}, Bochkova M.S.¹,
Timganova V.P.¹, Zamorina S.A.^{1,2}

¹FSBSI Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm; ²FSBEI HPE
Perm State National Research University, Perm, Russia

Key methods of measles diagnostics are presented in the paper. Immunoenzyme, chemiluminiscent assays and polymerase chain reaction are the most effective modern measles diagnostic methods. Development of more perfect diagnostic techniques is essential component of WHO Global measles and rubella strategic plan.

Key words: measles, diagnostics, ELISA, PCR, chemiluminiscence

ИЗУЧЕНИЕ РОСТА И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК ГИБРИДОМЫ ВАРЗ В РАЗЛИЧНЫХ СРЕДАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO*

Раев М. Б.^{1,2}, Заморина С. А.^{1,2}, Тимганова В. П.¹,
Бочкова М. С.¹, Храмцов П. В.^{1,2}

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН;
²Пермский государственный национальный исследовательский
университет, Пермь, Россия

Изучали рост и жизнеспособности клеток гибридомы ВАРЗ, производящей моноклональные антитела против трофобластического β 1-гликопротеина (ТБГ) после размораживания в условия культивирования в разных средах *in vitro*. Показано, что культивирование в среде [DMEM+12% FCS] приводит к максимальному росту клеток (в 1,8 раз за 2 суток) с сохранением жизнеспособности на уровне более 70%, в средах на основе [DCCM-1] прирост составил 1,1-1,2 раз, жизнеспособность в районе 55-59%; в среде [RPMI-1640+12% FCS] – прирост составлял 1,6 раз за 2 суток. Таким образом, использование среды [DMEM+12% FCS] выглядит наиболее рациональным для культивирования клеток с целью их восстановления после разморозки.

Ключевые слова: гибридома ВАРЗ, трофобластический β 1-гликопротеин (ТБГ), культивирование, рост клеточной массы, жизнеспособность

Трофобластический β 1-гликопротеин (ТБГ) является онкофетальным белком, который продуцируется клетками цито- и синцитиотрофобласта и обладает иммуносупрессивными свойствами. Для исследователей доступны некоторые рекомбинантные формы белка (PSG1, PSG9), лишь частично соответствующие гетерогенному составу ТБГ *in vivo*. В лаборатории экологической иммунологии (ИЭГМ УРО РАН, г. Пермь) разработана и запатентована технология выделения и очистки нативного ТБГ [1]. Получаемый препарат максимально

близок к составу ТБГ, обнаруживаемого в сыворотке беременных. Для точной идентификации препарата ТБГ оценивали его состав методом LC/MS (танDEMная хромато-масс-спектрометрия). Исследование было проведено в Хайфском технологическом институте «Technion» (Smoler Proteomics Center, руководитель профессор А. Эдмон, Хайфа, Израиль) на приборе LTQ-Orbitrap («Thermo Fisher», США). Согласно данным LC/MS следует, что препарат содержит несколько молекулярных форм белка: ТБГ-1, ТБГ-3, ТБГ-4, ТБГ-7, ТБГ-9,