

ходят по специфичности ФИТЦ-конъюгат. Кроме того, специфичность связывания конъюгата DyLight 488 с 5 вирусами бешенства (Барсук, Шувалов (кошка), Собака, Д 1125, Д 474) превосходила или по крайней мере не уступала американскому аналогу. Эти данные свидетельствуют о перспективности конъюгата DyLight 488.

Таким образом, можно заключить, что МКА 2e11 как в НМФА, так и меченные флюорохромом DyLight 488 по специфичности связывания с наиболее распространенными на территории России вирусами бешенства не уступают американскому аналогу (стандарту).

#### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Ведыриков В.А., Гулюкин М.И., Рожественский И.К. и др., ред. Обзор эпизоотической ситуации по бешенству в Российской Федерации в 2007 году и I полугодии 2008 г. М.; 2008. [Vedernikov V.A., Guljukin M.I., Rozhdestvenskij I.K. et al., red. Overview of the epizootic situation of rabies in the Russian Federation in 2007, and I half-year 2008. Moscow; 2008] (in Russian).
2. Грибенча С.В., Львов Д.К. Рабдовирусы. В кн.: Львов Д.К., ред. Медицинская вирусология. М.: МИА; 2008: 586–94. [Gribencha S.V., L'vov D.K. Rhabdoviridae. V kn.: L'vov D.K., red. Medicinskaja virusologija. Moscow: MIA; 2008: 586–94] (in Russian).
3. Лосич М.А., Непоклонова И.В., Мухин А.Н., Раев С.А., Селиверстов А.С., Грибенча С.В. и др. Разработка и иммунологические свойства новой антирабической вакцины "Рабифел". Российский ветеринарный журнал. 2012; 2: 10–4. [Losich M.A., Nepoklonova I.V., Mukhin A.N., Raev S.A., Seliverstov A.S., Gribencha S.V. et al. The development and characterisation of the immunobiological properties of a new anti-rabic vaccine "Rabifel". Rossijskij veterinarnyj zhurnal. 2012; 2: 10–4] (in Russian).
4. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Березина Е.С. Бешенство животных в России в 2007–2011 гг. Российский ветеринарный журнал. 2012; 6: 8–12. [Poleshuk E.M., Sidorov G.N., Berezina E.S. Rabies animals in Russia in 2007–2011. Rossijskij veterinarnyj zhurnal. 2012; 6: 8–12] (in Russian).
5. Amante L., Ancona A., Forni L. The conjugation of immunoglobulins with tetramethylrhodamine isothiocyanate. A comparison between the amorphous and the crystalline fluorochrome. J. Immunol. Methods. 1972; 1(3): 289–301.
6. Badran H., Bahloul C., Perrin P., Tordo N. Evidence of two lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. J. Virol. 2001; 75: 3268–76.
7. Bourhy H., Kissi B., Tordo N. Molecular diversity of the Lyssavirus genus. Virology. 1993; 194: 70–81.
8. Botvinkina A. D., Poleschuk E. M., Kuzmin I. V., Borisova T.I., Gazaryan S.V., Yager P. et al. Novel lyssaviruses isolated from bats in Russia. Emerg. Infect. Dis. 2003; 9: 1623–5.
9. Dietzschold B., Rupprecht C.E., Tollis M., Lafon M., Mattei J., Wiktor T. et al. Antigenic diversity of the glycoprotein and nucleocapsid proteins of rabies and rabies-related viruses: implications for epidemiology and control of rabies. Rev. Infect. Dis. 1988; 10(4): S 785–98.
10. Flamand A., Wiktor T.J., Koprowski H. Use of hybridoma monoclonal antibodies in the detection of antigenic difference between rabies and rabies-related virus proteins. I. The nucleocapsid protein. J. Gen. Virol. 1980; 48: 97–104.
11. Fu Z.F. Genetic comparison of rhabdoviruses from animals and plants. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2005; 292: 1–24.
12. Kohler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 1975; 256: 495–7.
13. Kuzmin I.V., Wu X., Tordo N., Rupprecht C.E. Complete genomes of Aravan, Khujand, Irkut and West Caucasian bat viruses, with special attention to the polymerase gene and non-coding regions. Virus Res. 2008; 136: 81–90.
14. WHO Expert Consultation on Rabies: first report. WHO Technical Report Series. 2004; 931: 18.
15. Yan J., Yonghuang L., Frank M. Characterization of conformation-specific monoclonal antibodies against rabies virus nucleoprotein. Arch. Virol. 2010; 155(8): 1187–92.

Поступила 21.03.13

## В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013  
УДК 616.915-078.33

Т.А. Мамаева<sup>1</sup>, М.А. Наумова<sup>1</sup>, Н.В. Железнова<sup>2</sup>, Г.Ю. Лунская<sup>3</sup>, М. Mulders<sup>4</sup>, D.A. Featherstone<sup>4</sup>

### Оценка коммерческих тест-систем ИФА разного формата для определения уровня специфических IgM и IgG в сыворотках больных корью

<sup>1</sup>ФБУН "Московский НИИЭМ им. Г.Н. Габричевского", 252212, Москва; <sup>2</sup>ФБУН "Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера", 197101, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>НИИФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, 199899, Москва; <sup>4</sup>ВОЗ, Женева, Швейцария

Оценены чувствительность и оперативные характеристики девяти коммерческих тест-систем (иммуноферментный анализ – ИФА) для определения уровня специфических IgM и IgG разного формата: indirect и capture. Материалом исследования стали 72 сыворотки больных типичной среднетяжелой формой кори из очага инфекции (2010), полученные на 5–6-е сутки после появления сыпи. Установлено, что с помощью тестов формата capture (VectoMeasles IgM, Vector-Best; Measles IgM capture EIA, Microimmune Ltd) IgM определялись практически в 100% случаев независимо от возраста и исходного вакцинального статуса больного, тогда как при использовании тестов формата indirect (IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM Siemens, Anti-Measles Viruses ELISA IgM Euroimmun, Virion-Serion IgM GmbH) результат был отрицательным в среднем у 23,6% взрослых, большинство которых имели 1–2 прививки в прошлом. Достоверность анализа показателей OD IgM и IgG, полученных при исследовании сывороток у больных с первичным и вторичным иммунным ответом разными тестами, высокая и не зависит от формата изученных тест-систем, о чем свидетельствуют значения F-критерия.

Ключевые слова: корь; специфические антитела; иммунитет; тест-системы; ИФА-метод.

## Estimation of the commercial elisa test-systems of different formats to detect specific IgM and IgG in the measles patients sera

<sup>1</sup> Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, Moscow, Russia; <sup>2</sup> Pasteur Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, St. Petersburg, Russia;

<sup>3</sup> Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov State University, Moscow, Russia; <sup>4</sup> WHO, Geneva, Switzerland

**Nine commercial kits of "captured" and "indirect" format ELISA assay for the detection of specific IgM and IgG in sera of patients with measles were compared to each other. 72 sera specimens from typical medium-severity cases from a measles outbreak (2010) were collected on the 5-6th day after the rash onset. IgM was detected with "capture" tests (Vecto-Measles IgM, Vector Best, Measles IgM capture EIA, Microimmune Ltd) close to 100% of cases, irrespectively to the age and the initial vaccination status of the patients. The IgM result was negative in 23.6% by average while investigating using "indirect" format tests (Enzygnost® Anti-Measles Virus/IgM, Siemens; Anti-Measles Viruses ELISA (IgM), Euroimmun, Virion-Serion IgM (GmbH). These cases were in adults, the majority of which had 1-2 vaccinations in the past. The analysis of the presented data shows high correlation connection between the tests used and high confidence level for OD IgM and IgG of the sera of the patients with the primary and secondary immune response.**

**Key words:** measles; specific antibodies; immunity; test-systems; ELISA method.

Несмотря на то что корь является одним из высококонтагиозных заболеваний, по мнению ведущих специалистов, элиминация коревой инфекции возможна, так как корь протекает в основном манифестно, вирус имеет единственный серотип, единственного хозяина – человека. Кроме того, живая коревая вакцина – это наиболее оптимальное и эффективное средство борьбы с корью [1–5].

С 2000 г. ЕРБ ВОЗ реализует "Стратегическую программу элиминации кори, краснухи и профилактики врожденной краснушной инфекции в Европейском регионе к 2015 году". При поддержке ВОЗ на базе Российского национального научно-методического центра (РННМЦ, Москва) по надзору за корью и краснухой в 2003 г. были созданы референс-лаборатория ЕРБ ВОЗ и лабораторная сеть стран СНГ, состоящая из 25 национальных и субнациональных лабораторий. Создание высокопрофессиональной лабораторной сети по кори и краснухе, работающей едиными методами по единому протоколу в единой информационной сети, позволяет получать достоверные результаты и сопоставлять их в рамках общей Европейской программы элиминации кори [6–11].

В 2003–2011 гг. лабораторно обследованы 56 263 больных с подозрением на корь и больных другими экзантемными заболеваниями. Сыворотки большинства (52,9%) пациентов исследованы в субнациональных лабораториях России.

Для проведения серологических исследований лабораторная сеть использует стандартный метод иммуноферментного анализа (ИФА): с 2003 по 2008 г. тест Enzygnost® Anti-Measles Virus/IgM, Siemens (Германия), а с 2009 г. спектр используемых тестов расширился за счет включения в работу специфических наборов IgM-, IgG-, IgG-avidity фирм-производителей: Vector Best (Россия), Euroimmun (Германия), Virion-Serion (Германия) и др.

Использование диагностических наборов разного формата, вовлечение в эпидемический процесс лиц разного возраста и вакцинального статуса [12–16] явились основанием оценки коммерческих тестов разного формата для выявления АТ (АТ) классов М и G в сыворотках больных корью.

### Материалы и методы

Для выявления IgM, IgG и определения степени avidности АТ класса G к вирусу кори в сыворотках крови методом ИФА использовали коммерческие тесты разного формата: непрямой (indirect) и метод двойного сэндвича (capture):

– indirect – Enzygnost® Anti-Measles Virus/IgM (Siemens, Германия);

– indirect – Anti-Measles Viruses ELISA/IgM (Euroimmun, Германия);

– indirect – Virion-Serion IgM (Virion-Serion GmbH, Германия);

– capture – VectoMeasles IgM (Vector-Best, Россия);

– capture – Measles IgM EIA (Microimmune Ltd, Англия);

– indirect – Enzygnost® Anti-Measles Virus/IgG (Siemens, Германия);

– indirect – Anti-Measles Viruses ELISA/IgG (Euroimmun, Германия);

– indirect – Virion-Serion IgG (Virion-Serion GmbH, Германия);

– capture – Measles IgG EIA (Microimmune Ltd, Англия);

– indirect – Avidity: Anti-Measles Viruses ELISA/IgG (Euroimmun, Германия).

Исследования проводили на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ (г. Москва, Россия) с использованием отдельных аликвот сывороток. Результаты интерпретировали в соответствии с инструкциями на тесты.

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с использованием методов параметрической статистики с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft®, Inc., США, <http://www.statsoft.ru>) и SPSS 13.0 for Windows. При этом применяли методы описательной статистики, а также корреляционный анализ и однофакторный дисперсионный анализ [17, 18].

Для проведения исследований использовали 72 сыворотки больных типичной среднетяжелой формой кори из очага инфекции, возникшего в результате импортирования инфекции из КНР. Завозной характер инфекции подтвержден эпидемиологическими данными и результатами генотипирования вируса – выявлен генотип Н1, широко циркулирующий на территории КНР в этот период. Взятие крови у больных проводили в острый период заболевания на 5–6-е сутки после появления сыпи. Больные корью были разного возраста: 4–12 мес ( $n=29$ ); 1,5–4 года ( $n=4$ ); 11–14 лет ( $n=6$ ) и 20–42 года ( $n=33$ ). Сведения о вакцинации получены из карт эпидемиологического расследования случая большого корью: 29 (40,28%) пациентов не привиты по возрасту (дети до 1 года); 12 (16,67%) имели документально подтвержденную вакцинацию; 11 (15,27%) 2 дозы вакцины; вакцинальный статус 20 (27,78%) не известен.

Предварительный анализ результатов исследования сывороточными тестами (IgM, IgG, avidность IgG) с учетом анамнестических данных позволил разделить пациентов на две группы. В 1-ю группу ( $n = 41$ ) вошли больные с первичным иммунным

Результаты исследования сывороток у больных на содержание IgM с использованием тестов разного формата (n=72)

Тест, формат	Положительные		Сомнительные		Отрицательные	
	количество сывороток	%	количество сывороток	%	количество сывороток	%
Vector-Best, capture	72	100	-	-	-	-
Microimmune Ltd, capture	70	97,2	2	2,8	-	-
Virion-Serion, indirect	52	72,2	2	2,8	18	25,0
Siemens, indirect	49	68,1	10	13,9	13	18,0
Euroimmun, indirect	46	63,9	6	8,3	20	27,8

### Результаты

Оценка тест-систем для определения уровня IgM. Маркеры острой инфекции (IgM) определены в 100 и 97,2% сывороток больных с помощью тестов формата capture – Vector-Best и Microimmune Ltd соответственно. При использовании тестов формата indirect количество положительных результатов составило 72,2% (Virion-Serion), 68,1% (Siemens) и 63,9% (Euroimmun) (табл. 1).

Наибольшее количество (13,9%) сомнительных результатов получено в тесте Siemens, а отрицательных (27,8%) – в тесте Euroimmun. В сыворотках 44 больных IgM выявлены всеми используемыми наборами.

При постановке ИФА диагностически значимым показателем является оптическая плотность (OD), которая выражается в оптических единицах (опт. ед.). В табл. 2 представлены результаты сравнительного анализа показателей OD, полученных в тестах различного формата.

Данные анализа показали не только высокий уровень корреляционной связи всех сравниваемых тестов, но и высокую значимость полученных результатов. Наиболее высокую корреляционную связь при определении коревых АТ класса М в тестах формата indirect выявили между Virion-Serion и Euroimmun ( $r = 0,89$ ;  $p = 0,000 < 0,05$ ).

Среди тестов разных форматов наивысшие значения отметили при сопоставлении данных, полученных в Microimmune capture и Siemens indirect ( $r = 0,861$ ;  $p = 0,000 < 0,05$ ). Графическая интерпретация этой связи представлена на рис. 1 для 1-й группы больных и на рис. 2 для 2-й.

При исследовании сывороток у больных 1-й группы показатели OD IgM, полученные с помощью тестов форматов indirect и capture, были положительными и находились в пределах 0,3–1,3 (0,7±0,03) и 0,7–3,4 (2,5±0,12) соответственно (см. рис. 1).

В сыворотках больных 2-й группы по данным теста capture средний показатель OD АТ класса М оказался в 2,5 раза ниже (1,02±0,16), чем в 1-й группе (2,5±0,12); значения OD были положительными в 93,5%; в 2 случаях результат расценили как сомнительный. Крайне низкие данные 0,029–0,85 (0,17±0,03), полученные при использовании теста формата indirect, были интерпретированы как отрицательные и сомнительные в 80,6% случаях (см. рис. 2).

При анализе показателей OD IgM, полученных при исследовании сывороток у больных двух групп, выявили статистически значимые различия при использовании всех тестов (табл. 3). Средние значения IgM в сыворотках 1-й группы превышали таковые во 2-й группе в 1,9–4,4 раза.

Оценка тест-систем для определения уровня IgG. Исследование 72 сывороток у больных корью на содержание IgG проводили с помощью трех тестов формата indirect: Enzygnost® Anti-Measles Virus/IgG (Siemens), Anti-Measles Viruses ELISA/IgG (Euroimmun), Virion-Serion IgG (GmbH) – и одного теста формата capture – Measles IgG Microimmune Ltd.

При использовании тестов формата indirect АТ класса G выявили в сыворотках у 69,4–73,6% больных (табл. 4). Количество положительных результатов в тесте формата capture составило 81,9%. Высокий уровень корреляционной связи результатов определения уровня АТ класса G, а также высокая значимость полученных данных демонстрируют возможность использования любого из сравниваемых тестов (табл. 5). Среди наборов разных форматов наивысший показатель обнаружили при сопоставлении OD IgG Microimmune Ltd/Virion-Serion ( $r = 0,931$ ;  $p = 0,000 < 0,05$ ). При сравнении результатов, полученных

в Microimmune Ltd/Siemens и Microimmune Ltd/Euroimmun,  $r = 0,904$  и  $r = 0,881$  соответственно ( $p = 0,000 < 0,05$ ). Значения корреляционной связи при определении противокоревых АТ класса G в тестах формата indirect были практически одинаковыми: 0,926–0,923 при  $p = 0,000 < 0,05$ .

Результаты анализа показателей значимости результатов OD IgG, полученных при исследовании сывороток (табл. 6), показали, что при использовании тестов разных форматов средние значения находятся в пределах 0,34–1,9 опт. ед. (1-я группа) и 1,94–6,6 опт. ед. (2-я группа).

Вместе с тем средние значения OD IgG по данным теста Euroimmun у больных 1-й группы в 2,5–5,6 раза выше результатов, полученных в других изученных тестах. Такую же закономерность выявили и по результатам исследования сывороток у больных 2-й группы, где разница составила 1,8–3,5 раза. Различия в показателях OD IgG двух групп, полученные с использованием наборов Euroimmun, могут свидетельствовать об особенностях конструирования данных наборов.

Для оценки количественного содержания IgG использовали данные, полученные с помощью тест-системы Enzygnost® Anti-Measles Virus/IgG (Siemens). В сыворотках у 17 больных 1-й группы IgG не обнаружили. Среднее значение, рассчитанное для 24 сывороток, составило  $1,96 \pm 0,44$  МЕ/мл при стандартном отклонении ( $\sigma = 2,17$ ). В сыворотках у больных 2-й группы АТ класса G определили в высокой концентрации:  $27,87 \pm 1,59$  МЕ/мл ( $\sigma = 8,83$ ), что в 14,2 раза превысило аналогичный показатель в 1-й группе.

Определение степени avidности IgG. Степень avidности IgG определили у 24 больных 1-й и 31 пациента 2-й групп (рис. 3).

Параметры корреляционной связи результатов определения содержания IgM, полученных в коммерческих тестах разного формата

Тест, формат	r	p
Vector-Best, capture/Microimmune Ltd, capture	0,764	0,000 < 0,05
Vector-Best, capture/Virion-Serion, indirect	0,783	0,000 < 0,05
Vector-Best, capture/Siemens, indirect	0,724	0,000 < 0,05
Vector-Best, capture/Euroimmun, indirect	0,723	0,000 < 0,05
Microimmune Ltd, capture/Virion-Serion, indirect	0,758	0,000 < 0,05
Siemens, indirect/Euroimmun, indirect	0,849	0,000 < 0,05
Microimmune Ltd, capture/Siemens, indirect	0,861	0,000 < 0,05
Microimmune Ltd, capture/Euroimmun, indirect	0,738	0,000 < 0,05
Virion-Serion, indirect/Siemens, indirect	0,831	0,000 < 0,05
Virion-Serion, indirect/Euroimmun, indirect	0,890	0,000 < 0,05

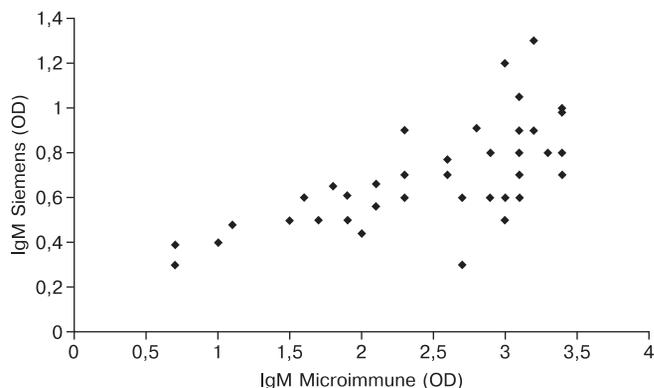


Рис. 1. Содержание (в опт. ед.) IgM (OD) в сыворотках у больных корью на 5–6-е сутки после появления сыпи (1-я группа). Здесь и на рис. 2: положительная величина IgM в тесте Siemens indirect = OD > 0,2; положительная величина IgM в тесте Microimmune capture = OD > 0,277.

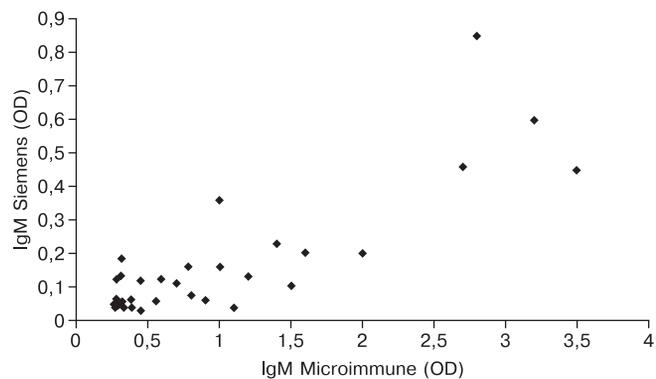


Рис. 2. Содержание IgM (OD) в сыворотках у больных корью на 5–6-е сутки после появления сыпи (2-я группа).

АТ класса G в этих группах ( $15,77 \pm 2,18$  и  $97,34 \pm 0,57\%$ ) статистически достоверна ( $F = 1632,75; p = 0,000 < 0,05$ ).

Установили, что АТ класса G, концентрация которых находится в пределах  $0,2–6,7$  МЕ/мл (1-я группа), были низкоавидными  $15,77 \pm 2,18\%$  ( $\sigma = 10,67$ ). IgG с показателями  $15,6$  МЕ/мл и выше (2-я группа) были высокоавидными  $97,34 \pm 0,57\%$ , ( $\sigma = 3,17$ ). Как показано на рис. 3, значения авидности АТ класса G у больных 2-й группы находятся практически на одном уровне. Данное наблюдение, обусловленное формированием у пациентов 2-й группы вторичного иммунного ответа, подтверждается показателем стандартного отклонения от среднего значения авидности IgG у больных 2-й группы, которое в 3,4 раза ниже, чем в 1-й группе.

При обобщенном анализе качественных и количественных значений специфических IgM, IgG с учетом вакцинального статуса больных установили, что 1-я ( $n=41$ ) и 2-я ( $n=31$ ) группы практически по всем показателям имели значимые различия (табл. 7). В сыворотках у больных 1-й группы выявили IgM у 100% всеми используемыми в данной работе тестами. У пациентов этой же группы определили низкоавидные IgG ( $15,77 \pm 2,18\%$ ).

Результаты лабораторного обследования больных 2-й группы свидетельствуют о повторной встрече с вирусом кори: АТ класса G с высокой степенью авидности и высокими показателями их концентрации обнаружили во всех сыворотках. Среднее значение IgG составило  $27,87 \pm 1,59$  МЕ/мл (Siemens). Разница между значениями IgG в 1-й и 2-й группах ( $1,96 \pm 0,44$  и  $27,87 \pm 1,59$ ), а также между показателями степени авидности

### Обсуждение

Результатом эпидемического неблагополучия по кори в ряде европейских стран и стран СНГ в последние годы стали вспышки инфекции, регистрируемые не только в регионах, которые не достигли 95% охвата вакцинацией, но и в высоковакцинированной популяции [19–21]. В связи с этим важное значение приобретает лабораторная диагностика инфекции, основной целью которой является подтверждение случаев кори.

Известно, что основными лабораторными маркерами коревой инфекции являются специфические IgM, сероконверсия или 4-кратное нарастание титров IgG, низкая степень авидности АТ класса G. Для определения содержания АТ разных классов широко используют метод ИФА, чувствительность и специфичность коммерческих наборов для которого широко обсуждается в литературе [12, 14, 16, 22].

В настоящей работе представлены данные сравнения пяти наборов по определению уровня IgM и четырех наборов для выявления IgG разных форматов и разных производителей. Результаты исследований с использованием сывороток, полученных в активной фазе заболевания от 72 больных корью, показали, что тесты форматов capture и indirect обладают различной способностью выявлять специфические АТ класса M. Процент лабораторного подтверждения диагноза коревой инфекции у больных составил от 63,9 по данным Euroimmun до 100 по результатам Vector-Best (см. табл. 1). По данным, полученным в тестах формата indirect, количество серонегативных в среднем составило 23,6% (см. табл. 1).

Таблица 3

Показатели OD IgM в сыворотках у больных двух групп, полученные с использованием тестов разного формата

Тест, формат	Показатель OD IgM в сыворотках у больных:		Значимость различий между группами F-критерий; уровень значимости (p)
	1-я группа (n=41)	2-я группа (n=31)	
Vector-Best, capture (Pos>0,257)	$3,23 \pm 0,02$	$1,69 \pm 0,18$	92,08 0,0000 (<0,05)
Microimmune Ltd capture (Pos>0,277)	$2,5 \pm 0,12$	$1,02 \pm 0,16$	54,89 0,0000 (<0,05)
Virion-Serion, indirect (Pos>0,43)	$1,75 \pm 0,05$	$0,46 \pm 0,08$	187,91 0,0000 (<0,05)
Siemens, indirect (Pos>0,2)	$0,7 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,03$	109,64 0,0000 (<0,05)
Euroimmun, indirect (Pos>1,1)	$2,89 \pm 0,12$	$0,65 \pm 0,12$	164,47 0,0000 (<0,05)

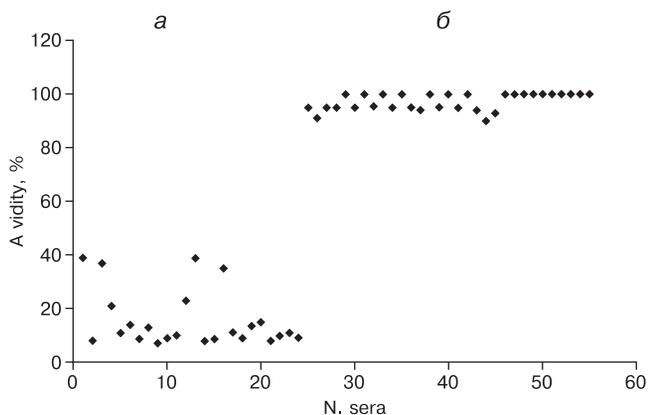


Рис. 3. Степень (в %) авидности IgG. а – 1-я группа, б – 2-я. Верхняя граница низкоавидных АТ 40%. Нижняя граница высокоавидных АТ 60%. N. sera – число сывороток.

Таблица 4

**Результаты исследования сывороток у больных на содержание IgG разными тестами (n=72)**

Тест, формат	Положительные		Сомнительные		Отрицательные	
	количество сывороток	%	количество сывороток	%	количество сывороток	%
Siemens, indirect	50	69,4	5	6,9	17	23,7
Euroimmun, indirect	52	72,2	3	4,2	17	23,6
Virion-Serion, indirect	53	73,6	2	2,8	17	23,6
Microimmune, capture	59	81,9	2	2,8	11	15,3

Возможных причин не подтверждения кори IgM-тестами формата indirect может быть несколько. Известно, что чувствительность тестов, основанных на использовании нативных и рекомбинантных антигенов ниже, чем чувствительность тестов варианта capture. Это, вероятно, связано с конструкцией последних, где предусмотрены использование моноклональных АТ, "захват" IgM и удаление АТ других классов на первой стадии постановки ИФА. Кроме того, несмотря на использование RF-сорбента в тестах формата indirect, нельзя исключить компрометирующего влияния на выявление IgM высокоавидных АТ класса G.

В работе показано, что OD IgM и IgG, полученная при сравнительных исследованиях тестов разного формата, отражает закономерности первичного и вторичного типа иммунного ответа. Средние показатели OD IgM в 1-й группе (первичный ответ) превышали соответствующие значения во 2-й группе в 1,9–4,4 раза (см. табл. 3). Показатели OD IgG

сывороток больных, ответивших на встречу с диким вирусом вторичным типом иммунного ответа, были выше подобных данных в 1-й группе в 3,5–7,7 раза (см. табл. 6).

Значимость анализа показателей OD IgM и IgG, полученных при исследовании сывороток у больных двух групп тестами разного формата, высокая и не зависит от формата изученных тест-систем, о чем свидетельствуют значения F-критерия (см. табл. 3, 6).

Небезынтересной и практически важной для дифференциальной диагностики кори с другими экзантемными заболеваниями является оценка специфичности высокочувствительного теста варианта capture.

Результаты наших (неопубликованных) исследований показали высокую специфичность теста Vecto-Measles IgM, с помощью которого в рамках программы проведения активного эпидемиологического надзора в 2010–2011 гг. были лабораторно обследованы 6789 пациентов с сыпью и лихорадкой. В сыворотках у 92 (1,36%) больных выявили IgM. В ходе дальнейшего (2–3-кратного) серологического обследования этих больных, а также анализа клинических и эпидемиологических данных результаты интерпретировали как ложные: низкое содержание высокоавидных IgG без нарастания и отсутствие или снижение показателей OD IgM во второй сыворотке.

С учетом того, что в эпидемический процесс вовлечены лица разного возраста и вакцинального статуса, лабораторное подтверждение кори целесообразно проводить с использованием тестов варианта capture [23]. Данное заключение справедливо, так как тесты формата capture обеспечивают лучшие условия взаимодействия "антиген–АТ", что повышает эффективность обнаружения специфических противокоревых АТ: 100% подтверждение в тесте Vector-Best и 92,8% в тесте Microimmune Ltd.

Процент положительных результатов в тестах формата indirect был существенно ниже – 68,1 (Siemens), 63,9 (Euroimmun) и 72,2 (Virion-Serion). В связи с этим использование тестов данного формата свидетельствует о необходимости осторожности в трактовке отрицательных результатов по IgM у больных корью, имевших сведения о вакцинации, а также у лиц с неизвестным прививочным анамнезом.

Таким образом, результаты сравнительных исследований коревых тестов для определения уровня IgM и IgG показали:

Таблица 5

**Параметры корреляционной связи результатов определения содержания IgG, полученных в коммерческих тестах разного формата**

Тест, формат	r	p
Microimmune Ltd, capture/Virion-Serion, indirect	0,931	0,000<0,05
Siemens, indirect/Euroimmun, indirect	0,925	0,000<0,05
Microimmune Ltd, capture/Siemens, indirect	0,904	0,000<0,05
Microimmune Ltd, capture/Euroimmun, indirect	0,881	0,000<0,05
Virion-Serion, indirect/Siemens, indirect	0,926	0,000<0,05
Virion-Serion, indirect/Euroimmun, indirect	0,923	0,000<0,05

Таблица 6

**Показатели OD IgG в сыворотках у больных двух групп, полученные с помощью тестов разного формата**

Тест, формат	Показатели OD IgG в сыворотках у больных:		Значимость различий между группами F-критерий; уровень значимости (p)
	1-я группа (n=41)	2-я группа (n=31)	
Siemens, indirect (Pos > 0,2)	0,34±0,06	2,61±0,07	566,27 0,0000 <0,05)
Microimmune, capture (Pos > 0,109)	0,74±0,17	3,61±0,06	189,41 0,0000 <0,05)
Virion-Serion, indirect (Pos > 0,34)	0,51±0,07	1,94±0,01	346,14 0,0000 <0,05)
Euroimmun, indirect (Pos > 1,1)	1,90±0,28	6,65±0,07	206,12 0,0000 <0,05)

Таблица 7

**Результаты лабораторного обследования больных корью**

Показатель	Больные корью	
	1-я группа (n=41)	2-я группа (n=31)
Возраст, годы	Средний 6,5 Предел 0,3–35	Средний 25 Предел 11–42
Вакцинальный статус	1 доза (9,8)	1 доза (25,8)
	Не вакцинированы (70,7)	2 дозы (35,5)
	Не известен (19,5)	Не известен (38,7)
IgM Vector-Best	+ (100)	+ (100)
IgM Microimmune	+ (100)	+ (93,5); * (6,5);
IgM Virion-Serion	+ (100)	+ (35,5); * (6,5); - (58,0)
IgM Siemens	+ (100)	+ (25,8); * (32,3); - (41,9)
IgM Euroimmun	+ (100)	+ (16,1); * (19,4); - (64,5)
IgG Siemens, ME/мл, среднее	1,96±0,44**	27,87±1,59
Avidity IgG Euroimmun, %, среднее	15,77±2,18**	97,34±0,57

Примечание. В скобках указан процент. + – положительный результат, – – отрицательный, \* – сомнительный; \*\* – расчет для 24 пациентов.

1) ограничения при использовании IgM наборов формата indirect в диагностике коревой инфекции у больных, имевших в анамнезе противокоревую вакцинацию;

2) статистически значимые различия показателей OD при исследовании сывороток у больных с первичным и вторичным иммунным ответом в тестах IgM разного формата;

3) количественные значения и степень avidности АТ класса G отражают закономерности первичного и вторичного типа иммунного ответа.

Авторы выражают благодарность Е.В. Воробейчикову (ФБУН "Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера") за математическую обработку полученных результатов.

#### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Зверев В.В., Маркушин С.Г., Юминова Н.В. Корь. СПб.: Санкт-Петербургский университет; 2004. [Zverev V.V., Markushin S.G., Yuminova N.V. Measles. St.-P.; 2004] (in Russian).
2. Тихонова Н.Т., Аleshkin В.А., Герасимова А.Г., Мамаева Т.А., Лазикова Г.Ф. Теоретические и практические аспекты элиминации кори в России. В кн.: Теоретические и практические аспекты элиминации кори в России. М.: ФБУН "МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского"; 2005: 14–8. [Tikhonova N.T., Aleshkin V.A., Gerasimova A.G., Mamaeva T.A., Lazikova G.F. Theoretical and practical aspects of measles in Russia. In: "Theoretical and practical aspects of measles in Russia". FBUN "G.N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, Moscow", 2005: 14–8] (in Russian).
3. Bellini W. J., Rota P. A. Biological feasibility of measles eradication. *Virus Res.* 2011; 162 (1–2): 72–9.
4. Muller C.P. Measles elimination: old and new challenges? *Vaccine.* 2001; 19 (17–19): 2258–61.
5. Strelbel P.M., Cochi S.L., Hoekstra E., Pota P.A., Featherstone D., Bellini W.J., Katz S.L. A World without measles. *J. Infect. Dis.* 2011; 204: 1–3.
6. Мамаева Т.А., Тихонова Н.Т., Наумова М.А., Шульга С.В. Национальная лабораторная сеть Российской Федерации по диагностике кори и ее роль в выполнении программы ВОЗ по ликвидации кори. Здоровье населения и среда обитания. 2007; 11 (176): 4–7. [Mamaeva T.A., Tikhonova N.T., Naumova M.A., Shulga S.V. National laboratory network of the Russian Federation for the diagnosis of measles and its role in the implementation of the program to eliminate measles WHO. Human health and the environment inhabitation niya. 2007; 11 (176): 4–7] (in Russian).
7. Featherstone D.A., Rota P.A., Icenogle J., Mulders M.N., Jee Y., Ahmed H. Expansion of the global measles and rubella laboratory network 2005–09. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (suppl. 1): S 491–8.
8. Onishchenko G.G., Ezhlova E.B., Gerasimova A.A., Tsvirkun O.V., Shulga S.V., Lipskaya G.Y. et al. Progress toward measles elimination in the Russian Federation, 2003–2009. *J. Infect. Dis.* 2011; 204: 366–72.
9. Shulga S.V., Rota P.A., Kremer J.R., Naumova M.A., Muller C.P., Tikhonova N.T. et al. Genetic variability of wild-type measles viruses, circulating in the Russian Federation during the implementation of the National Measles Elimination Program, 2003–2007. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15 (6): 528–37.
10. Tikhonova N.T., Bichurina M.A., Gerasimova A.G., Zvirkun O.V., Vladimirova N.P., Mamaeva T.A. et al. Enhanced surveillance for measles in low-incident territories of the Russian Federation: defining a rate for suspected case investigation. *Epidemiol. Infect.* 2011. 139: 239–46.
11. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection. Geneva, Switzerland. WHO; 2006.
12. Arista S., Ferraro D., Cascio A., Vizzi E., di Stefano R. Detection of IgM antibodies specific for measles virus by capture and indirect enzyme immunoassays. *Res. Virol.* 1995; 146 (3): 225–32.
13. Hickman C.J., Hyde T.B., Sovers S.B., Mercader S., McGrew M., Williams N.G. et al. Laboratory characterization of measles virus infection in previously vaccinated and unvaccinated Individuals. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (11): 549–58.
14. Ratnam S., Tipples G., Head C., Fauvel M., Fearon M., Ward B.J. Performance of indirect immunoglobulin M (IgM) serology test and IgM capture assays for laboratory diagnosis of measles. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 99–104.
15. Rota J.S., Hickman C.J., Sovers S.B., Pota P.A., Mercader S., Bellini W.J. Two case studies of modified measles in vaccinated physicians exposed to primary measles case: high risk of infection but low risk of transmission. *J. Infect. Dis.* 2011; 204: 559–63.
16. Rossier E., Miller H., McCulloch B., Sullivan L., Ward K. Comparison of immunofluorescence and enzyme immunoassay for detection of measles-specific immunoglobulin M antibody. *J. Med. Virol.* 1991; 29: 1069–71.
17. Bang H., Davidjan M. Experimental statistics for biological sciences. *Methods Mol. Biol.* 2010; 620: 3–104.
18. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. В кн.: Комаров Ю.М., ред. Статистика в медицине и биологии. Теоретическая статистика. М.: Медицина; 2000; т. 1: 412. [Medik V.A., Tokmachev M.S., Fishman B.B. In Komarov Y.M., editor. Statistics in medicine and biology. Theoretical statistics, v. 1. Moscow: Medicine; 2000; 1: 412] (in Russian).
19. Samoilovich E.O., Yermalovich M.A., Semeiko G.V., Svirchevskaya E.I., Rimzha M.I., Titov L.P. Outbreak of measles in Belarus. *Euro Surv.* 2006, 11(7): EO60727.3.
20. Velicko I., Muller L.L., Pebody R., Gergonne B., Aidryaliev Ch., Kostiuhenko N. et al. Nationwide measles epidemic in Ukraine: the effect of low vaccine effectiveness. *Vaccine.* 2008; 26: 6980–5.
21. Update on measles in the European Region. <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/disease-prevention/vaccines-and-immunization/publications/who-epidemiological-briefs/who-epidemiological-brief-18-measles-outbreaks-member-state-responses-measles-exportation-to-the-americas-region-afp-surveillance-and-the-polio-outbreak-in-china>
22. Dietz V., Rota J., Izurieta H., Carrasco P., Bellini W.J. The laboratory confirmation of suspected measles cases in setting of low measles transmission: conclusions from the experience in the American. *Bull. World Health Organ.* 2004; 82 (11): 852–7.
23. Мамаева Т.А., Липская Г.Ю., Наумова М.А., Шульга С.В., Mulders M., Featherstone D.A. Особенности лабораторной диагностики кори у больных с разным прививочным анамнезом. Вопросы вирусологии. 2012; 5: 21–6. [Mamaeva T.A., Lipskaya G.Y., Naumova M.A., Shulga S.V., Mulders M., Featherstone D.A. et al. Peculiarity of the laboratory Diagnostic of the measles virus infection in Previously vaccinated and unvaccinated Patients. *Problems of virology.* 2012; 5: 21–6] (in Russian).

Поступила 26.11.13

Журнал "Вопросы вирусологии" входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы значимые результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук