

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВОГО ДИАГНОСТИЧЕСКОГО МЕТОДА ИММУНОХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ВИРУСОВ ГРИППА**

*И.А. Мальчиков<sup>1</sup>, Р.М. Аминев<sup>2</sup>, С.Р. Рубова<sup>2</sup>, Ю.В. Григорьева<sup>1</sup>,  
А.В. Слободенюк<sup>1</sup>, И.А. Ольков<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ФГУН «Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций» Роспотребнадзора,

<sup>2</sup>ФГУ «1026 ЦГСЭН (ВЧ 96534)» МО РФ,

<sup>3</sup>Уральская государственная медицинская академия г. Екатеринбург

Лабораторная диагностика гриппа основывается на использовании классических вирусологических, серологических и современных молекулярно-генетических методах. При серологических исследованиях применяют как разработанные ранее методы (торможения гемагглютинации, связывания комплемента, иммунофлуоресценции), так и сравнительно новый – полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Но продолжается поиск новых методов, обеспечивающих более качественный и простой способ диагностики данного вируса, отвечающий современным требованиям к диагностическим тест-системам, которые должны характеризоваться высокой чувствительностью и специфичностью.

В настоящее время появились тест-системы, позволяющие получить ответ о наличии возбудителя инфекции буквально за считанные минуты. Такие тесты позволяют развернуть «лабораторию» прямо в кабинете врача. Так, например, всем известная «простуда», сопровождающаяся болью в горле, может быть как вирусного, так и бактериального происхождения. Причем в последнем случае обязательно назначение антибиотиков, что совершенно бессмысленно при вирусной природе болезни. Материал, взятый из зева, помещается в специальные пластинки и через 5–10 минут можно подтвердить или опровергнуть роль вируса в этиологии заболевания.

В основе упомянутого теста лежит иммунохроматографическая методика. В гамме тестов Quick Vue имеется тест для диагностики гриппа – Quick Vue Influenza, позволяющий не только подтвердить наличие, но и определять тип вируса для оценки эпидемиологической ситуации по гриппу, его профилактики и лечения.

### **Цель исследования**

Дать оценку диагностической ценности нового иммунохроматографического экспресс-метода для выявления антигенов вирусов гриппа А и В.

### **Материалы и методы**

В исследуемую группу вошли 85 военнослужащих срочной службы, заболевших острыми респираторными инфекциями в период эпидемического подъема заболеваемости гриппом. Лабораторные исследования выполнены в Центре ГСЭН медицинской службы Приволжско-Уральского военного округа и в лаборатории респираторных вирусных инфекций НИИ вирусных инфекций (г. Екатеринбург).

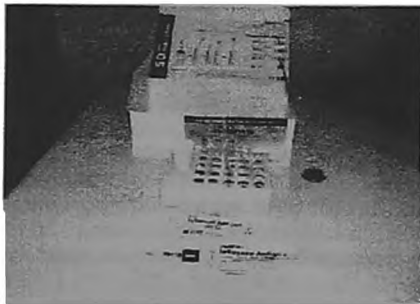
Среди вирусологических лабораторных параметров производилось определение антигенов вирусов гриппа А и В, в том числе высокопатогенного вируса гриппа А/Н1N1/09, в биологических субстратах (смывы с назофарингосальных слизистых оболочек носоглотки) иммунохроматографическим методом

(«SD BIOLINE Influenza Antigen», Германия), в реакции иммунофлуоресценции – РИФ («Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие для быстрой диагностики гриппа и других ОРЗ», г. С.-Петербург). РНК вируса гриппа - в полимеразной цепной реакции («АмплиСенс Influenza virus A/B-F1», «АмплиСенс Influenza virus A/H1-swine-F1», ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва). Антитела к вирусам гриппа А и В в сыворотках крови определяли в реакции торможения геммагглютинации (диагностикумы производства НИИ гриппа РАМН, г.С.-Петербург).

**Назначение и принцип метода.** Иммунохроматографический экспресс-тест рассчитан на 25 определений и пригоден для качественного определения антигенов вируса гриппа и дифференциации вируса гриппа типа А и В непосредственно в образцах смывов с назальных, назофарингеальных слизистых или в мазках из зева.

Проводили иммунохроматографическую индикацию и идентификацию антигенов вирусов гриппа методом прямого их выявления. Высокое качество тестов обеспечивается применением самых современных технологий получения моноклональных и поликлональных антител к иммуноглобулинам человека или к рекомбинантным антигенам возбудителей заболеваний и применением сорбентов с улучшенными свойствами.

Тест «SD BIOLINE Influenza Antigen» представляет собой мембранный стрип, на который раздельно нанесены моноклональные мышиные антитела к вирусу гриппа типа А и В. Специально отобранные антитела используются в качестве выявляющего агента. Это позволяет набору SD BIOLINE Influenza Ag с высокой степенью точности определять антигены вируса гриппа типа А и типа В непосредственно в образцах. Тестирование с помощью SD BIOLINE Influenza Ag тест-системы включает экстракцию антигенов вируса гриппа А и В путем разрушения и выделения, внутренних нуклеопротеинов вируса из взятых у пациента образцов и реакцию тест-полоски с полученным экстрактом.



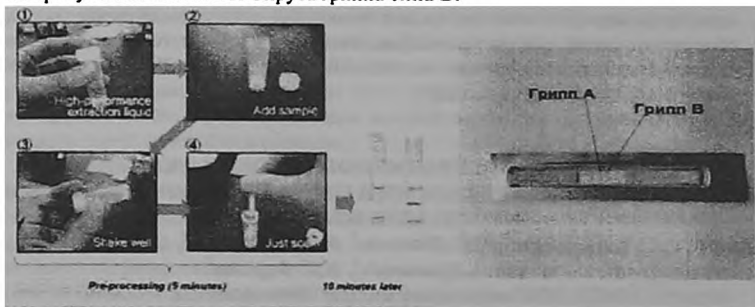
**Интерпретация результатов теста:** в правой части окна результатов должна появиться окрашенная полоса, свидетельствующая о правильности проведения теста. Эта полоса является контрольной (её расположение обозначено на стрипе буквой С).

**Отрицательный результат:** присутствие только одной контрольной полосы (С) указывает на отрицательный результат.

**Положительный результат:** присутствие двух окрашенных полос (С и А или С и В) в окне результатов указывает на положительный результат, независимо от того, какая полоса появилась первой.

Присутствие двух полос: контрольной (С) и тестовой полосы А указывает на присутствие антигенов вируса гриппа типа А.

Присутствие двух полос: контрольной (С) и тестовой полосы В указывает на присутствие антигенов вируса гриппа типа В.



**Неправильный результат:** отсутствие в окне результатов контрольной полосы (С) указывает на неправильный результат. Причиной может быть неправильное выполнение процедуры анализа или непригодность тестового устройства для анализа. Рекомендуется протестировать образец пациента повторно, используя новый стрип. РЕЗУЛЬТАТЫ И

#### Результаты и обсуждение

При исследовании мазков с назофарингеальных слизистых оболочек носоглотки от больных ОРВИ одновременно несколькими микробиологическими методами выявлено следующее:

- РНК вируса гриппа А в полимеразной цепной реакции, в том числе высокопатогенного вируса гриппа А/Н1N1/09, обнаружены у 43 (55,1%) человек;
- антигены вируса гриппа А иммунохроматографическим методом обнаружены у 36 (46,1%) человек;
- антигены вирусов гриппа А методом флуоресцирующих антител (РИФ) обнаружены у 22 (28,2%) человек.

Чувствительность и специфичность методов, использованных для детекции вирусов гриппа, составила соответственно:

- для ПЦР – 100% и 100%;
- для иммунохроматографического метода – 91,0% и 83,3%;
- для РИФ – 73,1% и 62,5%.

Для дополнительного показателя качества тест-систем использовали точность, для расчета которой учитывали результаты тестирований как с положительными, так и с отрицательными стандартными образцами:

- для ПЦР она составила 100%;
- для иммунохроматографического метода – 91,0%;
- для РИФ – 73,1%.

Серологическим методом (РТГА) подтверждено, что антитела к вирусам гриппа А обнаружены у 27 (34,6%) человек, что говорит о циркуляции данного вируса в популяции.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что иммунохроматографический метод для выявления антигенов вирусов гриппа А обладает высокой чувствительностью, специфичностью и точностью и может стать эффективным средством экспресс-диагностики данной инфекции в лабораторной практике наряду с ПЦР.

## **ВЛИЯНИЕ ВОДЫ ПОГРАНИЧНОГО СЛОЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В НОРМЕ И ПРИ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO**

*Р.Я. Подчерняева<sup>1</sup>, С.Е. Постнов<sup>2</sup>, М.В. Мезенцева<sup>3</sup>, Е.И. Исаева<sup>1</sup>,  
О.М. Гринкевич<sup>1</sup>, Е.Л. Фирсова<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского, г. Москва;

<sup>2</sup>ФГУП Центральный аэродинамический институт им. Н.Е.Жуковского, г. Москва;

<sup>3</sup>ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, г. Москва

Известно, что вода является основой жизни в природе и важным фактором для здоровья человека. Она должна быть безвредной по химическому составу и безопасной в эпидемиологическом отношении. Экспериментальные данные, полученные в последнее десятилетие изменили представление о природе воды и ее биологических свойствах [4-8].

Наше внимание привлечено к изучению воды, т.к. известно, что все живое состоит из воды на 80%, а клеточные культуры культивируются в питательных средах (199, Игла, Игла МЕМ и др.), которые готовятся также на воде.

Первоначально в наших экспериментах мы изучили влияния воды пограничного слоя (названной «Авода», сертификат №7688306) на различных клеточных культурах человека и животных. Авода представляет собой воду, собранную из пограничного слоя толщиной 500 мкм, формируемую твердой поверхностью. Было показано, что внутренняя жидкость организма (кровь, межклеточная и внутриклеточная жидкости) представляют собой исключительно поверхностный слой, формируемый биологическими структурами клеток стенок сосудов и крови [4].

Учитывая, что для культивирования клеток необходимо наличие нетоксичных сывороток как крупного рогатого скота (КРС), так и эмбриональных телячьих сывороток (ЭТС), нами проведено изучение токсичности сывороток на диплоидной линии клеток легкого эмбриона человека (ЛЭЧ). Было показано, что 3 вида сывороток КРС (из фирм Ну Clone, «Фуро» и «Биопрепарат») и 5 видов ЭТС (фирмы ПАНЭКО) обладали токсичными свойствами, вызывая дегенерацию клеток ЛЭЧ. Исходя из этого, мы попытались выяснить возможность применения Аводы для снятия фактора токсичности. Для этого на монослой клеток в 0,5 м матрасах (фирмы «Costar») вносили сыворотку ЭТС с Аводой (в