

Петров В.В.¹, Киреев Д.Е.^{1,2}, Шипулин Г.А.¹

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИЗМЕРЕНИЯ РНК ВИЧ-1, РНК ВГС И ДНК ВГВ С ПОМОЩЬЮ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ «АМПЛИСЕНС»

¹ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, Москва;

²Российский университет дружбы народов, 117198, Москва

Проведена оценка воспроизводимости трех наборов реагентов «АмплиСенс» для количественного измерения РНК ВИЧ-1, РНК ВГС и ДНК ВГВ посредством ретроспективного анализа протоколов выходного контроля наборов реагентов, выпущенных ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора в 2014–2016 гг. Для каждого набора реагентов проанализировано более 100 выпущенных серий. Общее количество протестированных образцов для каждого набора реагентов было не менее 590. Для каждого образца рассчитывали разницу между паспортным и экспериментальным значением десятичного логарифма концентрации РНК/ДНК вируса (dLg). Полученные значения dLg использовали для нахождения медианы и стандартного отклонения (SD). Полученные значения SD и принимали за воспроизводимость. Расчеты проводили с использованием Microsoft Excel 2010. Средняя воспроизводимость по образцам с разной концентрацией РНК ВИЧ-1 составила 0,218 Lg, РНК ВГС – 0,191 Lg, ДНК ВГВ – 0,174 Lg. Наименьшую воспроизводимость измерения наблюдали для концентраций, соответствующих нижней границе линейного диапазона количественного измерения, она составила для РНК ВИЧ-1 – 0,275 Lg, для РНК ВГС – 0,206 Lg и для ДНК ВГВ – 0,211 Lg. Полученная воспроизводимость данных наборов реагентов АмплиСенс сопоставима с воспроизводимостью наборов ведущих зарубежных производителей. Принимая во внимание существующие рекомендации по лечению пациентов с ВИЧ и вирусными гепатитами В и С, в соответствии с которыми эффективной считается терапия, когда вирусная нагрузка падает в 10–100 раз или даже до недетектируемых уровней, нет необходимости улучшать достигнутую воспроизводимость.

Ключевые слова: воспроизводимость; количественная ПЦР; РНК; ДНК; ВИЧ; ВГС; ВГВ; АмплиСенс.

Для цитирования: Петров В.В., Киреев Д.Е., Шипулин Г.А. Воспроизводимость количественного измерения РНК ВИЧ-1, РНК ВГС и ДНК ВГВ с помощью наборов реагентов «АмплиСенс». Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (7): 436-440. DOI:<http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-7-436-440>

Petrov V.V.¹, Kireev D.E.^{1,2}, Shipulin G.A.¹

THE REPRODUCIBILITY OF QUALITATIVE MEASUREMENT OF RNA HIV-1, RNA HCV AND RNA HBV USING AMPLISENS REAGENTS' KITS

¹The central research institute of epidemiology of Rosпотребнадзор, 111123 Moscow, Russia

²The peoples' friendship university of Russia, 117198 Moscow, Russia

The evaluation of reproducibility of three reagents' kits AmpliSens for quantitative measurement of RNA HIV-1, RNA HCV and RNA HBV using retrospective analysis of protocols of output control of reagents' kits produced by the central research institute of epidemiology of Rosпотребнадzor in 2014-2016. For every reagents' kits more than 100 produced series are analyzed. The total number of tested samples for every reagents' kits was at least 590. For every sample a difference between passport and experimental value of decimal algorithm of concentration of RNA/DNA of virus (dLg) was calculated. The obtained values of dLg were used to determine median and standard deviation (SD). The obtained values of SD were accepted as a reproducibility. The calculations were implemented using Microsoft Excel 2010. The average reproducibility according samples with various concentration of RNA HIV-1 made up to 0,218 Lg, RNA HCV - 0,191 Lg and RNA HBV - 0,174 Lg. The least reproducibility of measurement was observed for concentrations corresponding to lower limit of linear range of qualitative measurement and it made up to for RNA HIV1 0,275 Lg, RNA HCV - 0,206 Lg and RNA HBV - 0,211 Lg. The obtained reproducibility of the given reagents' kits AmpliSens is comparable with reproducibility of reagents' kits of foreign manufacturers. There is no necessity to enhance achieved reproducibility because, taking into account actual recommendations on treatment of patients with HIV and viral hepatitis B and C, according to them a therapy is considered effective when viral load decreases up to 10-100 times and even up to non-detectable levels.

Key words: reproducibility; qualitative polymerase chain reaction; RNA; DNA; HIV; HBV; HCV; AmpliSens

For citation: Petrov V.V., Kireev D.E., Shipulin G.A. The reproducibility of qualitative measurement of RNA HIV-1, RNA HCV and RNA HBV using AmpliSens reagents' kits. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (7): 436-440. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-7-436-440>

For correspondence: Petrov V.V., the head of research group on development of new molecular biological technologies. e-mail: petrov@pcr.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had sponsor support by the Minobrnauki of Russia through the RUPF program of development of competitiveness "5-100" among leading world research educational centers in 2016-2022

Received 30.12.2016
Accepted 10.01.2017

Введение. Результат измерения вирусной нагрузки может быть причиной начала, смены или окончания терапии. Любой метод количественного измерения характеризуется воспроизводимостью, в том числе количественное измерение концентрации вирусной РНК/ДНК с помощью ПЦР. В ситуации, когда сравнивают несколько результатов измерения вирусной нагрузки, в том числе с помощью двух разных наборов реагентов, необходимо знать воспроизводимость измерения каждого из них. Это позволяет понять, находится ли разница двух измерений в пределах погрешности или эта разница свидетельствует о завышении или занижении концентрации вирусной РНК/ДНК в каком-то из полученных результатов.

Воспроизводимость измерений в *in vitro* диагностике – функциональная характеристика, представляющая случайную погрешность измерения в серии результатов измерений при совокупности условий измерения, которые включают в себя различные место, операторов, измерительные системы и параллельные измерения одного и того же или сходного объектов – это дисперсия результатов измерений, полученных в оговоренных условиях, выраженная как среднеквадратичное отклонение (*standard deviation*, SD) и/или коэффициент вариации. Для самых распространенных и известных в мире наборов реагентов воспроизводимость составляет порядка 0,2–0,3 Lg. Это значит, что в 68% случаев измеренная концентрация вирусной РНК/ДНК должна находиться в пределах $\pm 0,2\text{--}0,3$ Lg (1 SD) от среднего значения, в 95% случаев – в пределах $\pm 0,4\text{--}0,6$ Lg (2 SD). Таким образом, если взять два результата, полученные на разных наборах реагентов с воспроизводимостью измерения 0,2 Lg (SD₁) и 0,3 Lg (SD₂) соответственно, то теоретически в 68% случаев разница между разными измерениями не должна превышать суммы стандартных отклонений (SD₁₊₂ = SD₁ + SD₂), в данном случае – 0,5 Lg. Но также следует понимать, что в соответствии с «правилом трех сигм» еще в 27% случаев отклонение между двумя измерениями может быть в пределах 0,5–1 Lg (2 · SD₁₊₂), а в редких (5%) случаях и вовсе в пределах 1–1,5 Lg (3 · SD₁₊₂). Величина стандартного отклонения, являясь важнейшей характеристикой количественного теста, в обязательном порядке должна присутствовать в его эксплуатационной документации. Однако для большинства диагностических наборов отечественного производства данная информация отсутствует в инструкции по применению. Стандартное отклонение для наборов реагентов «АмплиСенс ВИЧ-монитор-FRT», «АмплиСенс HCV-монитор-FL» и «АмплиСенс HBV-монитор-FL» на этапе разработки и регистрации в качестве медицинских изделий было оценено в 0,3 Lg. В настоящее время появилась возможность более точно оценить данную характеристику посредством ретроспективного анализа на большем количестве данных.

Цель данной работы – определение воспроизводимости количественной оценки наборов «АмплиСенс ВИЧ-монитор-FRT», «АмплиСенс HCV-монитор-FL» и «АмплиСенс HBV-монитор-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Для это-

го проведен анализ протоколов выходного контроля наборов реагентов «АмплиСенс ВИЧ-монитор-FRT», «АмплиСенс HCV-монитор-FL» и «АмплиСенс HBV-монитор-FL».

Материал и методы. В анализ были включены все результаты исследований наборов реагентов, прошедших производственный выходной контроль. Всего проанализировано 100, 111 и 109 серий наборов реагентов «АмплиСенс ВИЧ-монитор-FRT», «АмплиСенс HCV-монитор-FL» и «АмплиСенс HBV-монитор-FL» соответственно, с общим количеством протестированных контрольных образцов 689, 685 и 591 соответственно. В каждом протоколе сравнивали паспортные значения концентраций контрольных образцов с расчетными значениями. Статистический анализ проводили в ПО Microsoft Excel 2010.

Для каждого образца рассчитывали разницу десятичного логарифма экспериментальной и паспортной концентрации вирусной РНК/ДНК (dLg). В полученных выборках значений dLg с помощью функции «Анализ данных – > Гистограмма» (с автоматическим определением карманов) строили распределение частот (рис. 1, а–в). С помощью функции СТАНДОТКЛОН.В находили среднеквадратичное отклонение для значений dLg, которое принимали за воспроизводимость измерения (SD). Границы 95% доверительного интервала медианы рассчитывали для каждой выборки с помощью функции КРИТБИНОМ со значениями альфа 0,025 и 0,975; полученные с помощью функции КРИТБИНОМ значения использовали для нахождения границ доверительного интервала с помощью функции ПРОЦЕНТИЛЬ.ВКЛ.

Результаты. Каждый протокол выходного контроля включал в себя тестирование нескольких контрольных образцов с разной концентрацией, в том числе с концентрацией, равной нижней границе линейного диапазона количественного измерения. Для некоторых серий наборов реагентов протокол выходного контроля содержал результаты из нескольких независимых исследований.

Расчет воспроизводимости проводили как одновременно для всех концентраций контрольных образцов, так и отдельно для каждой группы концентраций. Итоговые результаты отражены в таблице, где *n* – количество образцов, dLg_{медиана} – медиана значений dLg, ДИ 95% – 95% доверительный интервал для значения медианы каждой выборки значений dLg, SD – стандартное отклонение или воспроизводимость количественного измерения концентрации РНК/ДНК.

Средняя по всем образцам воспроизводимость количественного измерения получилась следующая: для ВИЧ-монитор-FRT – 0,218 Lg, для HCV-монитор-FL – 0,191 Lg, для HBV-монитор-FL – 0,174 Lg. Чуть выше был разброс значений на нижней границе линейного диапазона: 0,275 Lg для ВИЧ, 0,206 Lg для ВГС и 0,211 Lg для ВГВ.

Все полученные значения десятичных логарифмов концентрации контрольных образцов использовали для построения графика линейности. Для ВИЧ-монитор-FRT линейность составила 0,9949 ($R^2 = 0,9468$), для HCV-монитор-FL – 0,9853 ($R^2 =$

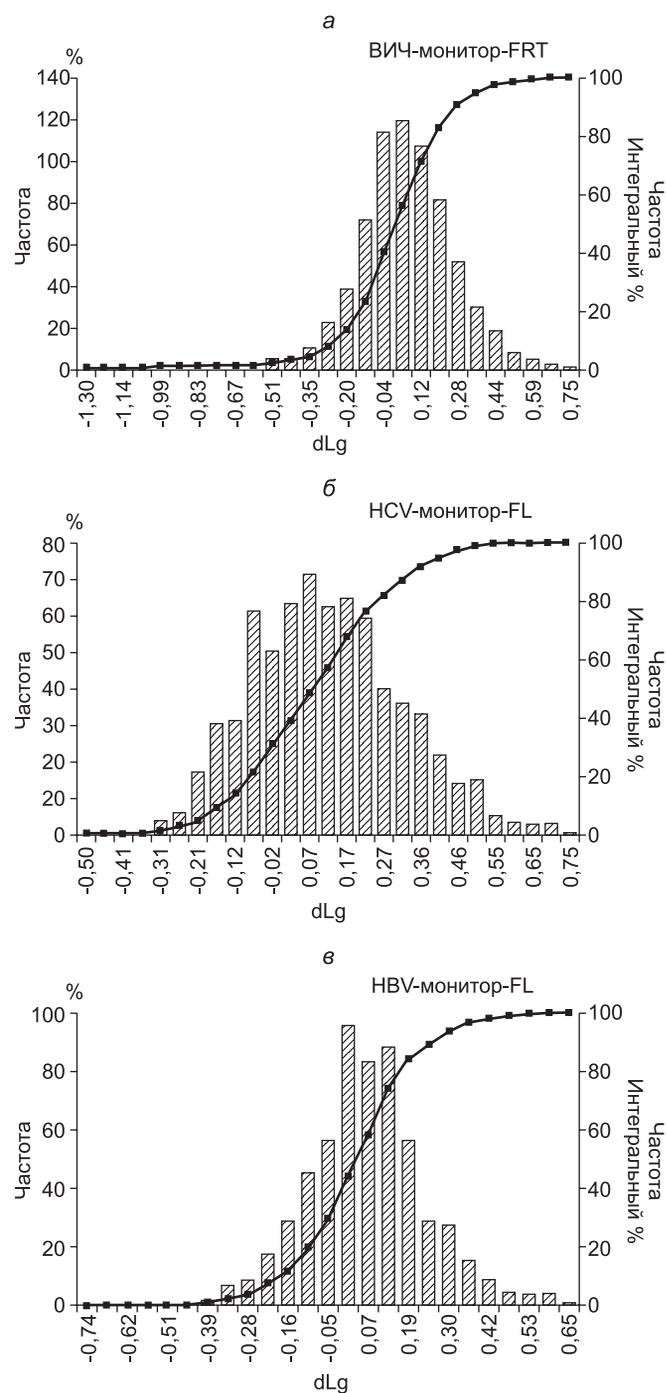


Рис. 1. Гистограмма распределения значений dLg для всех контрольных образцов.

a – «АмплиСенс» «ВИЧ-монитор-FRT». Медиана dLg – 0,007; *б* – «АмплиСенс» «HCV-монитор-FL». Медиана dLg – 0,074; *в* – «АмплиСенс» «HBV-монитор-FL». Медиана dLg – 0,033.

0,9818), для HBV-монитор-FL – 0,9946 ($R^2 = 0,9864$) (рис. 2, *a–в*).

Обсуждение. В публикациях, посвященных сравнению количественных характеристик ПЦР-наборов разных производителей, значения воспроизводимости определения вирусной нагрузки в клинических образцах колеблются от 0,1 до 0,4 Lg, в зависимости от используемого набора реагентов и концентрации

вируса в образце: чем ниже вирусная нагрузка, тем ниже воспроизводимость; в этих работах воспроизводимость рассчитывали по 3–5 одинаковым постановкам, по 5 повторам образцов различной концентрации в каждой постановке. Важно отметить, что взятые в анализ протоколы выходного контроля наборов «АмплиСенс» включали различные формы выпуска наборов реагентов, с разными комплектами для выделения РНК/ДНК (как в ручном, так и в автоматическом режиме), кроме этого, выходной кон-

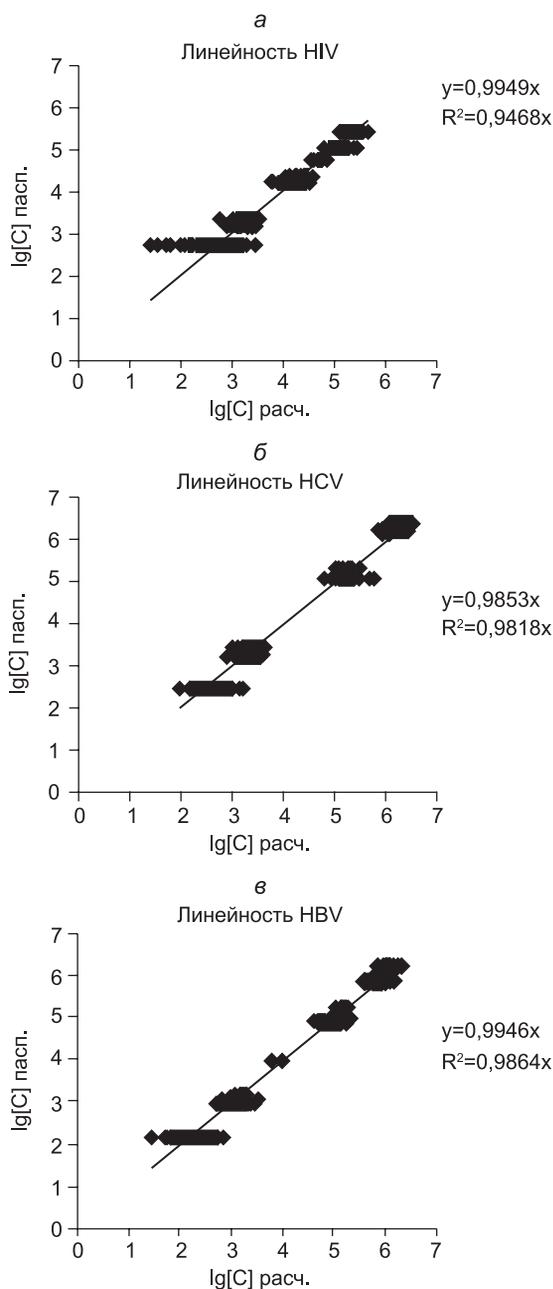


Рис. 2. Линейность наборов реагентов.

Линия тренда выбиралась с пересечением оси Y в точке 0. Lg[C] паспортное значение концентрации контрольного образца или его разведения. Lg[C] расч – экспериментальное значение концентрации контрольного образца или его разведения: *a* – «ВИЧ-монитор-FRT»; *б* – «HCV-монитор-FL»; *в* – «HBV-монитор-FL».

Результаты определения воспроизводимости

Группа образцов	Диапазон концентраций, МЕ/мл (для ВИЧ, копий/мл)	N	dLg _{медиана}	ДИ 95%	SD
ВИЧ					
10 ⁵	5,1 · 10 ⁴ –2,47 · 10 ⁵	118	-0,005	-0,029–0,014	0,131
10 ⁴	1,62–2,28 · 10 ⁴	118	-0,028	-0,077–0,010	0,153
10 ³	1,43–2,00 · 10 ³	118	0,003	-0,031–0,026	0,146
500	500	335	0,041	0,008–0,063	0,275
Все	500–2,47 · 10 ⁵	689	0,007	-0,006–0,025	0,218
НСV					
10 ⁶	1,43–2,31 · 10 ⁶	146	-0,087	-0,100–0,058	0,117
10 ⁵	1,13–2,17 · 10 ⁵	134	0,068	0,041–0,088	0,152
10 ³	1,46–2,53 · 10 ³	139	0,102	0,054–0,130	0,147
300	300	266	0,209	0,185–0,245	0,206
Все	300–2,31 · 10 ⁶	685	0,074	0,054–0,095	0,191
НВV					
10 ⁶	6,51 · 10 ⁵ –1,66 · 10 ⁶	118	-0,040	-0,060–0,015	0,123
10 ⁵	7,73 · 10 ⁴ –1,63 · 10 ⁵	119	-0,006	-0,031–0,015	0,120
10 ³	9,71 · 10 ² –9,68 · 10 ³	121	0,059	0,035–0,091	0,138
150	150	233	0,112	0,079–0,13	0,211
Все	150–1,66 · 10 ⁶	591	0,033	0,016–0,05	0,174

троль проводили разные операторы, в разные дни и с использованием разных амплификаторов. Значит, полученные результаты отражают максимально возможную вариабельность в количественной оценке вирусной РНК/ДНК. Но даже в максимально разнообразных условиях проведения анализа воспроизводимость количественной оценки на нижней границе линейного диапазона для всех наборов реагентов была не выше 0,275 Lg, что сопоставимо с воспроизводимостью наиболее известных и распространенных в мире аналогичных наборов реагентов зарубежных производителей. Наибольшее разнообразие методов выделения приходилось на набор «ВИЧ-монитор-FRT», не случайно здесь наблюдается несколько больший разброс значений dLg, чем для «НСV-монитор-FL» и «НВV-монитор-FL».

Можно ли увеличить воспроизводимость измерения вирусной нагрузки и нужно ли это делать? Один из способов увеличения воспроизводимости – стандартизация всех процедур лабораторного исследования. Наивысшая степень такой стандартизации – автоматизация всех этапов исследования. Стандартизация (автоматизация) снижает вероятность ошибки оператора и улучшает сходимость результатов. Второй способ – анализ в нескольких повторах и расчет среднего значения, что наиболее актуально для образцов с вирусной нагрузкой вблизи нижней границы линейного диапазона. Но такой способ увеличивает стоимость анализа кратно количеству повторов. Третий способ – повышение качества диагностических наборов, включающее как подбор олигонуклеотидов, одинаково эффективно выявляющих различные генетические варианты возбудителей, так и стандартизацию производства компонентов набора. Кроме этого, следует проводить периодическое тестирование ПЦР-наборов на контрольных панелях образцов, включающих в себя как наиболее распространенные, так и редкие субтипы вирусов.

Насколько существующая воспроизводимость оценки вирусной нагрузки с помощью ПЦР соответствует запросам клинической практики? Известно, что при хорошем эффекте АРВТ во время лечения ВИЧ уже к 4–8-й неделе после начала приема препаратов ожидается снижение уровня РНК ВИЧ приблизительно в 10 раз (на 1 log₁₀). При лечении гепатита С снижение уровня РНК ВГС менее чем в 100 раз (на 2 log₁₀) после 12-й недели терапии служит свидетельством медленного вирусологического ответа. Определяемая ДНК ВГВ на 6-м месяце лечения, при условии, что ее концентрация снизилась более чем в 10 раз (на 1 log₁₀) начального уровня, свидетельствует лишь о частичном вирусологическом ответе. Учитывая это, можно сказать, что в клинической практике лечения указанных вирусов значимым изменением вирусной нагрузки

является изменение в десятки и более раз, вплоть до недетектируемого уровня. Но в случае использования разных наборов реагентов для оценки вирусной нагрузки разница между ними иногда может достигать 1 Lg и более. Именно поэтому первым способом улучшения воспроизводимости указана стандартизация лабораторных исследований. При проведении всех, включая используемые наборы реагентов, этапов исследования по единому протоколу, картина динамики вирусной нагрузки у пациента становится наиболее связной: отличия между измерениями вирусной нагрузки будут находиться в пределах воспроизводимости данного набора реагентов. Следовательно, при анализе в условиях неизменности всех этапов исследования, включая набор реагентов, существующая воспроизводимость наборов «АмплиСенс» позволяет достоверно обнаруживать клинически значимое изменение вирусной нагрузки при регулярном наблюдении за пациентами. В данном случае нет необходимости улучшать достигнутую воспроизводимость.

Заключение. Таким образом, наборы реагентов «ВИЧ-монитор-FRT», «НСV-монитор-FL» и «НВV-монитор-FL» с воспроизводимостью измерения не более 0,275, 0,206 и 0,211 Lg соответственно служат надежным инструментом для мониторинга вирусной нагрузки ВИЧ, ВГС и ВГВ у пациентов. Полученная воспроизводимость для наборов реагентов производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора сопоставима с воспроизводимостью аналогичных наборов реагентов ведущих зарубежных производителей.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ по Программе повышения конкурентоспособности РУДН «5-100» среди ведущих мировых научно-образовательных центров на 2016–2022 гг.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 2, 4–8, 13 см. REFERENCES)

3. Демидович Б.П., Кудрявцев В.А. *Краткий курс высшей математики*. М.: АСТ, Астрель; 2001.
9. Покровский В.В., Юрин О.Г., Кравченко А.В., Беляева В.В., Канестри В.Г., Афонина Л.Ю., и др. Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2014; S6: 1–28.
10. Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д., Кожевникова Г.М., Маевская М.В., Маев И.В. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2013; 23 (2): 41–70.
11. Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д., Маевская М.В., Знойко О.О., Дудина К.Р., Кареткина Г.Н. и др. Клинические рекомендации российской гастроэнтерологической ассоциации и российского общества по изучению печени по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом В. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2014; 24 (3): 58–88.

REFERENCES

1. Abbott Molecular Inc. Abbott RealTime HIV-1 User's Manual. 2007: 59.
2. Roche Molecular Systems Inc. COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 Test User's Manual. 2007: 36.
3. Demidovich B.P., Kudryavtsev V.A. *Short course of higher mathematics*. Moscow: Astrel'; 2001. (in Russian)
4. Braun P., Ehret R., Wiesmann F., Zabbai F., Knickmann M., Kühn R. et al. Comparison of four commercial quantitative HIV-1 assays for viral load monitoring in clinical daily routine. *Clin. Chem. Lab.* 2007; 45 (1): 93–9.
5. Scott L., Noble L., Moloi J., Erasmus L., Venter W. Evaluation of the Abbott m2000 RealTime human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) assay for HIV load monitoring in South Africa compared to the Roche Cobas AmpliPrep-Cobas Amplicor, Roche Cobas AmpliPrep-Cobas TaqMan HIV-1, and BioMerieux NucliSENS Easy. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (7): 2209–17.
6. Cook L., Ng K.W., Bagabag A., Corey L. Use of the MagNA Pure LC Automated Nucleic Acid Extraction System followed by Real-

- Time Reverse Transcription-PCR for Ultrasensitive Quantitation of Hepatitis C Virus RNA. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 47 (7): 4130–6.
7. Mor O., Gozlane Y., Wax M., Mileguir F., Rakovsky A., Noy B., Mendelson E., Levy I. Evaluation of the RealTime HIV-1, Xpert HIV-1, and Aptima HIV-1 Quant Dx Assays in Comparison to the NucliSens EasyQ HIV-1 v2.0 Assay for Quantification of HIV-1 Viral Load. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53 (11): 3458–65.
8. Wirden M., Tubiana R., Fourati S., Thevenin M., Simon A., Canestri A. et al. Upgraded Cobas AmpliPrep-Cobas TaqMan Version 2.0 HIV-1 RNA Quantification Assay versus First Version: Correction of Underestimations. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49 (7): 2700–2.
9. Pokrovskiy V.V., Yurin O.G., Kravchenko A.V., Belyaeva V.V., Kanestri V.G., Afonina L.Yu. et al. Protocols of follow-up and treatment of patients with HIV infection. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. 2014; S6: 1–28. (in Russian)
10. Ivashkin V.T., Yushchuk N.D., Kozhevnikova G.M., Maevskaya M.V., Maev I.V. Recommendations for the diagnosis and treatment of adult patients with hepatitis C. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2013; 23 (2): 41–70. (in Russian)
11. Ivashkin V.T., Yushchuk N.D., Maevskaya M.V., Znoyko O.O., Dudina K.R., Karetkina G.N. et al. Clinical guidelines of the Russian Gastroenterological Association and the Russian Society for Study of the Liver on diagnosis and treatment of adult patients with hepatitis B. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2014; 24 (3): 58–88 (in Russian)
12. LaRue H., Rigali L., Balada-Llasat J.M., Pancholi P. Performance of the Abbott RealTime and Roche Cobas TaqMan Hepatitis C Virus (HCV) Assays for Quantification of HCV Genotypes. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (5): 1769–72.
13. Swanson P., Holzmayer V., Huang S., Hay P., Adebisi A., Rice P. et al. Performance of the automated Abbott RealTime™ HIV-1 assay on a genetically diverse panel of specimens from London: Comparison to VERSANT HIV-1 RNA 3.0, AMPLICOR HIV-1 MONITOR v1.5, and LCx® HIV RNA Quantitative assays. *J. Virol. Methods*. 2006; 137 (2): 184–92.

Поступила 30.12.16

Принята к печати 10.01.17

© ГАЕВСКАЯ Н.Е., КОЧЕТКОВА А.О., 2017

УДК 616.932-022:579.843.1]-078

Гаевская Н.Е., Кочеткова А.О.

НОВЫЕ РАСЫ ХОЛЕРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ХОЛЕРЫ

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия

Холера продолжает оставаться проблемой здравоохранения мирового масштаба. Поэтому необходим постоянный мониторинг холеры как одного из основных компонентов эпидемиологического надзора на всех уровнях. Поиск новых рас холерных фагов, перспективных для использования в лабораторной диагностике, актуален и в первую очередь связан с необходимостью подтверждения специфических свойств возбудителя холеры эффективным, простым и надежным способом. Цель нашей работы – провести изыскание новых рас холерных фагов и наметить перспективы их практического использования. Мы использовали 360 штаммов *Vibrio cholerae* биовара El Tor, выделенных из различных источников и в разные годы, а также 43 штамма *Vibrio cholerae* Classical. В исследование были взяты как типичные культуры *Vibrio cholerae* El Tor, так и измененные варианты (RO, RS). Из изученных 25 холерных фагов наиболее перспективны для конструирования фагового препарата 4 бактериофага, спектр литической активности которых составлял у фагов El 1, O1, El 2, C1 – 57,5, 64,6, 66,3, 83,3% соответственно. Из числа взятых штаммов 32 культуры (7,9%) сохранили устойчивость ко всем фагам. Предлагаемые бактериофаги имеют различный спектр литической активности в отношении холерных вибрионов. Для размножения и контроля новых рас диагностических бактериофагов были подобраны новые авирулентные тест-штаммы. Анализ полученных результатов показал, что изученные холерные фаги, обладающие высокой литической активностью, могут быть использованы для диагностики штаммов холерных вибрионов.

Ключевые слова: холерные бактериофаги; диагностические бактериофаги; фагорезистентность; фагодиагностика.

Для корреспонденции: Гаевская Наталья Евгеньевна, канд. мед. наук, зав. лаб. бактериофагов; e-mail: gaevskaya_nata@mail.ru