

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.33-002-022:578.823.91]-078

Подколзин А.Т., Гусева А.Н., Веселова О.А., Курочкина Д.Е., Шипулин Г.А.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ РОТАВИРУСОВ, ИСПОЛЗУЕМЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва, Россия

Проведены оценка и сравнение аналитических характеристик наборов реагентов для выявления антигенов ротавирусов SD BIOLINE Rotavirus (Standard Diagnostics, Корея), RIDA®Quick Rotavirus (R-Biopharm AG, Германия), RotaStick One-Step Test (Novamed Ltd., Израиль), QuickStripe™ Rotavirus (Savyon Diagnostics Ltd., Израиль), Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ (ЗАО «Вектор-Бест», РФ), Рота-антиген (ООО «НПП АКВАПАСТ», РФ) на панели, включавшей 84 положительных и 43 отрицательных по содержанию ротавирусов группы А образцов. В качестве методики сравнения использовался набор реагентов «Амплисенс ОКИ скрин-FL» с подтверждающим [P]G типированием положительных образцов. Сопоставление аналитической чувствительности наборов реагентов проводилось на панели, охарактеризованной с применением метода капельной цифровой ПЦР (Droplet Digital PCR (ddPCR)). Показатели диагностической чувствительности и специфичности наборов реагентов составили для SD BIOLINE Rotavirus и RIDA®Quick Rotavirus – 84,52 и 100%, RotaStick One-Step Test – 71,43 и 100%, QuickStripe™ Rotavirus – 75,00 и 100%, Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ – 83,33 и 100, Рота-антиген – 83,33 и 90,91% соответственно. Аналитическая чувствительность иммунохроматографических и иммуноферментных наборов составила $5 \cdot 10^6$ ГЭ/мл для [P]8G4 генотипа ротавирусов группы А. Сопоставимо высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности, достаточные для этиологической диагностики ротавирусной инфекции в острой стадии заболевания, продемонстрировали наборы реагентов SD BIOLINE Rotavirus, RIDA®Quick Rotavirus и Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ. Аналитическая чувствительность сравниваемых наборов не позволяет рекомендовать их применение для исследования образцов, характеризующихся низкими концентрациями ротавирусов (бессимптомные носители, объекты окружающей среды).

Ключевые слова: Rotavirus; ИФА; иммунохроматография; RT-PCR; сравнение.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60(6): 48–52.

Podkolzin A.T., Guseva A.N., Veselova O.A., Kurochkina D.E., Shipulin G.A.

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF SETS OF REAGENTS FOR IDENTIFICATION OF ANTI-GENS OF ROTAVIRUSES USED ON THE TERRITORY OF RUSSIA

The central research institute of epidemiology of Rospotrebnadzor, 111123 Moscow, Russia

The study was carried out to evaluate and compare analytical characteristics of reagents kits for identification of antigens of rotaviruses SD BIOLINE Rotavirus (Standard Diagnostics, Korea), RIDA®Quick Rotavirus (R-biopharm AG, Germany), RotaStick One-Step Test (Novamed Ltd., Israel), QuickStripe™ Rotavirus (Savyon doagnostics Ltd., Israel), Rotavirus-antigen-IFA-BEST (Vector-Best, the Russian Federation), Rota-antigen (NPP AKVAPAST, the Russian Federation). The panel included 84 positive and 43 negative samples of rotaviruses group A according their content. The reagents kit “Amplisense OKI screen-FL” with confirming [P]G typing of positive samples was used for comparison. The comparison of analytical sensitivity of reagents kits was implemented on panel characterized by using technique of droplet digital polymerase chain reaction. The indicators of diagnostic sensitivity and specificity of reagents kits amounted to 84.52% and 100% for SD BIOLINE Rotavirus and RIDA®Quick Rotavirus, 71.43% and 100% for RotaStick One-Step Test, 75.00% and 100% for QuickStripe™ Rotavirus, 83.33% and 100% for Rotavirus-antigen-IFA-BEST, 83.33% and 100% for Rota-antigen. The analytical sensitivity of immunochromatographic and immunoenzyme kits amounted to 5×10^6 GE/ml for [P]8G4 genotype of rotaviruses of group A. The reagents kits SD BIOLINE Rotavirus, RIDA®Quick Rotavirus and Rotavirus-antigen-IFA-BEST demonstrated matched high indicators of diagnostic sensitivity and specificity sufficient for etiological diagnostic of rotavirus infection at acute stage of disease. The analytical sensitivity of compared kits does not allow recommending them to apply in analysis of samples characterized by lower concentrations of rotaviruses (asymptomatic agents, objects of environment).

Key words: rotavirus; enzyme-linked immunosorbent assay; immunochromatography; polymerase chain reaction; comparison

Citation: Klinicheskaja Laboratornaia Diagnostika. 2015; 60 (6): 48–52.

Введение. При отсутствии специфической профилактики ротавирусная инфекция (РВИ) у детей первых лет жизни является наиболее частой причиной диарей, требующих госпитализации [1]. Широкая распространенность и выраженность клинических проявлений РВИ обуславливают высокую востребованность наборов реагентов для ее этиологической диагностики и потребность в их сравнительной характеристике [2, 3].

Для корреспонденции: Подколзин Александр Тихонович, apodkolzin@pcr.ru, лаб. молекулярной диагностики и эпидемиологии кишечных инфекций ОМДиЭ

For correspondence: Podkolzin A.T., apodkolzin@pcr.ru

В настоящее время на территории Российской Федерации (РФ) представлен широкий спектр диагностических наборов для выявления антигенов ротавирусов в образцах фекалий. На основе данных ежеквартальных отчетов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» (ЦГиЭ) в субъектах РФ об эффективности применения методов этиологической лабораторной диагностики в очагах групповой заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) определен перечень наиболее часто используемых наборов реагентов для диагностики РВИ.

Целью данной работы явилось сравнение аналитических характеристик данных наборов реагентов.

Материалы и методы. Панель клинических образцов включала образцы фекалий, собранные в острую фазу заболевания от госпитализированных детей при проведении еже-

Таблица 1

Антигенные типы ротавирусов гРА и диапазоны значений величин порогового цикла (Ct) в референтно-положительных образцах клинического материала, вошедших в состав панели

[P]G тип	Количество образцов (n)	Диапазон значений Ct
P[8]G4	30	15,3–34,5
P[8]G9	14	14,7–30,7
P[8]G1	18	11,0–27,2
P[4]G2	10	14,6–26,1
P[8]G3	6	13,7–20,4
P[8]G12	1	12,9
mixt	5	10,0–27,7

годного сезонного мониторинга антигенных типов ротавирусов на территории следующих субъектов РФ: Московская обл., Республика Дагестан, Томская обл., Хабаровский край, Нижегородская, Иркутская, Свердловская, Новосибирская области, Ненецкий АО, Камчатский край, Оренбургская обл. В состав панели методом случайной выборки включены 84 образца клинического материала, давших положительный

Таблица 2

Результаты тестирования панели клинических образцов с применением сравнимых наборов реагентов

Наборы реагентов	Референтная методика		Всего
	положительные	отрицательные	
SD BIOLINE Rotavirus			
Положительные	71*	0	71
Отрицательные	13	43	56
Всего...	84	43	127
RIDA®Quick Rotavirus			
Положительные	71*	0	71
Отрицательные	13	43	56
Всего...	84	43	127
RotaStick One-Step Test			
Положительные	60**	0	60
Отрицательные	24	43	67
Всего...	84	43	127
QuickStripe™ Rotavirus			
Положительные	63**	0	63
Отрицательные	21	43	64
Всего...	84	43	127
Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ			
Положительные	70	0	70
Отрицательные	14	43	57
Всего...	84	43	127
Рота-антиген			
Положительные	70	4	74
Отрицательные	14	40	44
Всего...	84	44	127

Примечание. Образцы, вызывавшие затруднение при визуальной интерпретации результатов, отмечены звездочками: * – 5 образцов, ** – по 6 образцов.

результат тестирования на наборе реагентов «АмплиСенс® ОКИ скрин» № ФСР 2008/02265 и дополнительно охарактеризованных определением [P]G генотипов ротавирусов, и 43 образца фекалий, отрицательных по содержанию ротавирусов группы А(гРА). Определение генотипов ротавирусов гРА проводилось по методике, описанной ранее [4, 5].

На основании отчетов о частоте применения различных наборов реагентов лабораториями ФБУЗ ЦГиЭ для сравнительного тестирования выбраны следующие диагностикумы: SD BIOLINE Rotavirus (Standard Diagnostics, Корея), RIDA®Quick Rotavirus (R-Biopharm AG, Германия), RotaStick One-Step Test (Novamed Ltd., Израиль), QuickStripe™ Rotavirus (Savyon Diagnostics Ltd., Израиль), Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ (ЗАО «Вектор-Бест», РФ), Рота-антиген (ООО «НПП АКВАПАСТ», РФ). Тестирование панели проводилось однократно в соответствии с инструкциями производителей.

Аналитическая чувствительность наборов оценивалась на титровке клинического образца, содержащего Rotavirus гРА [P]8G4 генотипа. Концентрация ротавируса в образце определялась с помощью метода капельной цифровой ПЦР (Droplet Digital PCR (ddPCR)).

Результаты. Антигенные типы ротавирусов гРА и диапазоны значений величин порогового цикла (Ct), характеризующие концентрацию ротавирусов в образцах клинического материала, вошедших в состав панели, представлены в табл. 1.

При работе с инструкциями к наборам реагентов выявлены следующие особенности. В наборах RIDA®Quick Rotavirus (R-Biopharm AG, Германия) и QuickStripe™ Rotavirus (Savyon Diagnostics Ltd., Израиль) потребителю предоставляется англоязычная инструкция.

В англоязычной инструкции к набору RotaStick One-Step Test (Novamed Ltd., Израиль), представленной на сайте компании производителя, заявленная область применения сформулирована как качественный скрининг образцов фекалий человека на наличие антигена ротавируса («the qualitative screening of human fecal samples for detection of the presence of rotavirus antigen»). В инструкции, предоставляемой российскому потребителю, область применения очерчена шире: «для лабораторной диагностики заболеваний ротавирусной этиологии, осуществления эпидемиологического надзора за инфекцией и обнаружения антигенов ротавирусов в воде».

В инструкциях к набору SD BIOLINE Rotavirus (Standard Diagnostics, Корея) различий в описании областей применения в англоязычной и русскоязычной версиях не выявлено. Корректно представлена информация об интерпретации результатов тестирования: «положительные результаты в данном тесте должны быть подтверждены, например, с помощью коммерчески доступных наборов для ИФА или наборов для ПЦР-диагностики в “реальном времени”».

При визуальной оценке результатов использования кассетных иммунохроматографических тестов SD BIOLINE Rotavirus и RIDA®Quick Rotavirus отмечалось хорошее контрастирование контрольной и тестовой полос, в то время как для тестов в формате стрипов QuickStripe™ Rotavirus и RotaStick One-Step Test наблюдалось несколько худшее контрастирование полос, однако в большинстве случаев это не вызывало затруднений в интерпретации результатов.

Испытуемые наборы характеризовались следующими значениями диагностической специфичности (SPC), диагностической чувствительности (TPR), позитивного предсказательного значения (PPV) и негативного предсказательного значения (NPV): SD BIOLINE Rotavirus – SPC 100%, TPR 84,52%, PPV 100%, NPV 76,79%; RIDA®Quick Rotavirus – SPC 100%, TPR 84,52%, PPV 100%, NPV 76,79%; RotaStick One-Step Test – SPC 100%, TPR 71,43%, PPV 100%, NPV – 64,18%; QuickStripe™ Rotavirus – SPC 100%, TPR 75,00%, PPV 100%, NPV 67,19%; Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ – SPC 100%, TPR 83,33%, PPV 100%, NPV 75,44%; Рота-антиген (ООО «НПП АКВАПАСТ», РФ) – SPC 90,91%, TPR 83,33%, PPV 94,59%, NPV 74,07%. Результаты тестирования панели представлены в табл. 2.

Характеристика образцов, на которых были получены дискордантные результаты тестирования

№ образца	Пороговый цикл (Ct)*	[P]G тип	Rida Quick Rotavirus	SD BIOLINE	RotaStick One-Step Novamed	QuickStripe Savyon Diagnostics	Рота-антиген	Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ
18176	27,7	mixt P[8]G4P [8]G3	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
20051	30,7	P[8]G9	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
20435	24,5	P[8]G9	Пол.**	Пол.**	Отр.	Отр.	Пол.	Пол.
21360	23,7	P[8]G4	Пол.**	Пол.**	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.
21515	33,4	P[8]G4	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
21628	32,6	P[8]G4	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.	Отр.
20325	34,5	P[8]G4	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.	Отр.
19818	22,4	P[8]G1	Пол.**	Пол.**	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.
21647	Отр.	-	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.	Отр.
21702	Отр.	-	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.	Отр.
21707	Отр.	-	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.	Отр.
21710	Отр.	-	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.	Отр.
21067	26,1	P[4]G2	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	
21170	25,0	P[8]G1	Пол.	Пол.	Отр.	Пол.**	Пол.	Пол.
21173	25,1	P[8]G1	Пол.	Пол.	Отр.	Пол.**	Пол.	Пол.
21226	26,3	P[8]G1	Пол.	Пол.	Отр.	Отр.	Пол.	Пол.
21228	28,4	P[8]G9	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
21264	25,4	P[8]G4	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.	Отр.
21265	26,0	P[8]G1	Пол.	Пол.	Отр.	Отр.	Пол.	Пол.
21274	27,2	P[8]G1	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
21279	27,0	P[8]G1	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
21292	27,2	P[8]G1	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
21302	26,0	P[8]G1	Пол.**	Пол.**	Отр.	Отр.	Отр.	Пол.
21358	29,4	P[8]G4	Пол.**	Пол.**	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
21392	29,2	P[8]G4	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
21427	27,7	P[8]G4	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
21435	26,4	mixt P[8]G4 P[8]G1	Пол.	Пол.	Отр.	Пол.**	Пол.	Пол.
21842	25,5	P[8]G9	Пол.	Пол.	Отр.	Отр.	Пол.	Пол.

Пр и м е ч а н и е. * – при использовании набора реагентов «АмплиСенс® ОКИ скрин» № ФСР 2008/02265 и проведении амплификации на приборе Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия); ** – образцы, вызывавшие затруднение при визуальной интерпретации результатов.

Характеристика образцов клинического материала, давших дискордантные результаты тестирования при использовании референтного и испытуемых методов, представлена в табл. 3.

Средние значения порогового цикла (Ct) в образцах с дискордантными результатами тестирования составили $27,39 \pm 3,00$ (среднее значение \pm стандартное отклонение).

Распределение значений оптической плотности, полученной при использовании наборов реагентов Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ (ЗАО «Вектор-Бест», РФ) и Рота-антиген (ООО «НПП АКВАПАСТ» РФ), представлено на рисунке.

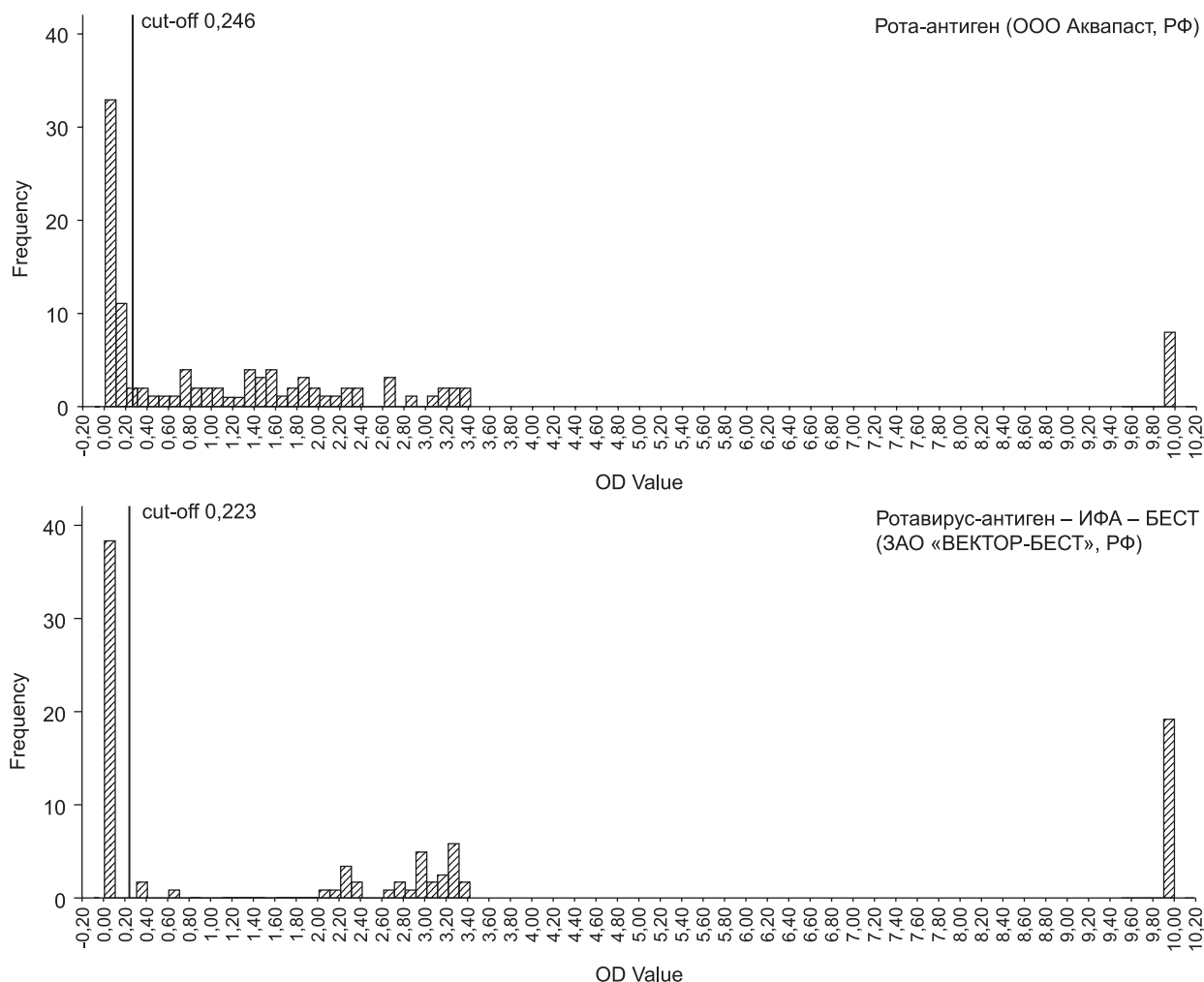
Результаты сравнения аналитической чувствительности испытуемых наборов представлены в табл. 4.

Обсуждение. Применение иммунохроматографических наборов реагентов характеризуется большой оперативностью и низкой трудозатратностью. Ложнопозитивные результаты исследований при их использовании в данном исследовании не отмечались. Наборы SD BIOLINE Rotavirus, RIDA®Quick Rotavirus показали идентичные результаты тестирования, совпадавшие в том числе и по дискордантным образцам.

При использовании ИФА-АГ наборов ложнопозитивные результаты исследований отмечались только при применении набора Рота-антиген, причем в значительном проценте случаев (4 из 43 отрицательных образцов), что соответствует более ранним наблюдениям [6].

Распределение значений оптической плотности в иммуноферментных наборах существенно различалось. Если для набора Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ основная часть отрицательных образцов имела выраженное смещение в правую часть гистограммы, то для набора Рота-антиген характерно их равномерное распределение в области критического значения оптической плотности. В диапазон значений $0,5 - 2,0$ OD при использовании набора Рота-антиген попали 20 образцов, а при использовании набора Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ – только 6.

Отдельной характеристики заслуживают образцы, давшие ложнопозитивные результаты тестирования на наборе Рота-антиген. Если в двух из четырех образцов значения OD близки к критическому значению, то в двух



Распределение значений оптической плотности, полученной при использовании наборов реагентов Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ (ЗАО "Вектор-Бест", РФ) и Рота-антиген (ООО «НПП АКВАПАСТ», РФ).

Вертикальным штрихом отмечено представленное производителем критическое значение оптической плотности (OD).

Таблица 4

Сравнение аналитической чувствительности испытуемых наборов реагентов

Концентрация ротавируса (P]8G4) в разведении клинического образца*, ГЭ/мл	Результаты тестирования (количество повторов/положительных результатов)						
	Референтный метод («АмплиСенс® ОКИ скрин»)	SD BIOLINE Rotavirus	RIDA®Quick Rotavirus	RotaStick One-Step Test	QuickStripe™ Rotavirus	Ротавирус-антиген-ИФА-БЕСТ	Рота-антиген
5·10 ⁸	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
5·10 ⁷	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
5·10 ⁶	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3**	3/3***
5·10 ⁵	3/3	3/0	3/0	3/0	3/0	3/0	3/0
5·10 ⁴	3/3	3/0	3/0	3/0	3/0	3/0	3/0
5·10 ³	3/3	3/0	3/0	3/0	3/0	3/0	3/0

Примечание. * – по результатам применения метода каплевой цифровой ПЦР (Droplet Digital PCR (ddPCR)); ** – среднее значение OD 0,283; *** – среднее значение OD 0,521.

других приближались к 1 (максимально регистрируемое значение OD).

Образцы с дискордантными результатами тестирования характеризовались диапазоном значений Ct 22,4 – 34,5 со средним значением 27,39 ± 3,00 (среднее значение ± стандартное отклонение). При характерном для острой фазы ротавирусной инфекции распределении значений Ct в диапазоне 20,6 ± 6,3 (данные не показаны) можно прогнозировать

наличие лишь незначительного количества клинических образцов, попадающих в данный диапазон при проведении диагностики у пациентов с манифестной симптоматикой и ранними сроками заболевания.

В рамках такой заявленной области применения набора реагентов RotaStick One-Step Test (Novamed Ltd, Израиль), как «осуществление эпидемиологического надзора и обнаружение ротавирусов в воде», при исследовании образцов от бес-

симптомных носителей и концентратов воды основная доля образцов характеризуется значительно более низким содержанием ротавирусов со значениями Ct, превышающими 30 циклов. Потенциальная эффективность методов выявления антигенов ротавирусов в данных случаях будет крайне низкой, что не соответствует рекомендуемым областям применения набора.

Конфликты интересов. Авторы публикации – сотрудники ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии», являющегося производителем наборов реагентов торговой марки «Амплисенс», не входивших в перечень сравниваемых диагностикумов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Parashar U.D., Gibson C.J., Bresee J.S., Glass R.I. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(2): 304–6.
2. Gautam R.I., Lyde F., Esona M.D., Quaye O., Bowen M.D. Comparison of Premier™ Rotaclone®, ProSpec™, and RIDASCREEN® rotavirus enzyme immunoassay kits for detection of rotavirus antigen in stool specimens. *J. Clin. Virol.* 2013; 58(1): 292–4.
3. Tate J.E., Mijatovic-Rustempasic S., Tam K.I., Lyde F.C., Payne D.C., Szilagyi P. et al. Comparison of 2 assays for diagnosing rotavirus and evaluating vaccine effectiveness in children with gastroenteritis. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(8): 1245–52.
4. Podkolzin A.T., Fenske E.B., Abramycheva N.Y., Shipulin G.A., Sagalova O.I., Mazepa V.N. et al. Hospital-based surveillance of rotavirus and other viral agents of diarrhea in children and adults in Russia, 2005–2007. *J. Infect. Dis.* 2009; 200(Suppl. 1): S228–33.
5. Veselova O.A., Podkolzin A.T., Petukhov D.N., Kuleshov K.V., Shipulin G.A. Rotavirus Group A Surveillance and Genotype Distribution in Russian Federation in Seasons 2012–2013. *Int. J. Clin. Med.* 2014; 5: 407–13.
6. Подколзин А.Т., Абрамычева Н.Ю., Фенске Е.Б., Каджаева Э.П., Шипулин Г.А., Сагалова О.И. и др. Сравнение результатов приме-

нения ИФА-тест-систем российского производства для выявления антигенов ротавирусов в фекалиях. В кн.: *Генодиагностика инфекционных болезней. Материалы Российской научно-практической конференции*. Новосибирская область; 2005: 2220–5.

Поступила 01.12.14

REFERENCES

1. Parashar U.D., Gibson C.J., Bresee J.S., Glass R.I. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(2): 304–6.
2. Gautam R.I., Lyde F., Esona M.D., Quaye O., Bowen M.D. Comparison of Premier™ Rotaclone®, ProSpec™, and RIDASCREEN® rotavirus enzyme immunoassay kits for detection of rotavirus antigen in stool specimens. *J. Clin. Virol.* 2013; 58(1): 292–4.
3. Tate J.E., Mijatovic-Rustempasic S., Tam K.I., Lyde F.C., Payne D.C., Szilagyi P. et al. Comparison of 2 assays for diagnosing rotavirus and evaluating vaccine effectiveness in children with gastroenteritis. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(8): 1245–52.
4. Podkolzin A.T., Fenske E.B., Abramycheva N.Y., Shipulin G.A., Sagalova O.I., Mazepa V.N. et al. Hospital-based surveillance of rotavirus and other viral agents of diarrhea in children and adults in Russia, 2005–2007. *J. Infect. Dis.* 2009; 200(Suppl. 1): S228–33.
5. Veselova O.A., Podkolzin A.T., Petukhov D.N., Kuleshov K.V., Shipulin G.A. Rotavirus Group A Surveillance and Genotype Distribution in Russian Federation in Seasons 2012–2013. *Int. J. Clin. Med.* 2014; 5: 407–13.
6. Podkolzin A.T., Abramycheva N.Y., Fenske E.B., Kadzhaeva E.P., Shipulin G.A., Sagalova O.I. et al. Comparison of the results of the application of ELISA test systems of Russian production of antigen detection of rotavirus in faeces. In: *[Genodiagnostika Infektsionnykh Bolezney: Materialy Rossiyskoy Nauchno-prakticheskoy Konferentsii]*. Novosibirskaya oblast'; 2005: 222–5. (in Russian)

Received 01.12.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.34-002-022.6-078

Подколзин А.Т., Гусева А.Н., Веселова О.А., Курочкина Д.Е., Шипулин Г.А.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ДЕТЕКЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВИРУСНЫХ ДИАРЕЙ В РЕЖИМЕ REAL-TIME

ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва, РФ

Цель работы – определение значений параметров, характеризующих концентрации патогенов (пороговый цикл – Ct), коррелирующих с острой фазой вирусных гастроэнтеритов. Обследованы группы пациентов со спорадической и групповой заболеваемостью острыми кишечными инфекциями с применением наборов реагентов Амплисенс (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии, Россия) в формате real-time (ОТ) ПЦР на наличие Rotavirus grA, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus grF, Shigella spp, EIEC, Salmonella spp, Campylobacter spp (термофильная группа). Анализировалось распределение Ct в зависимости от изолированного и сочетанного выявления патогенов в клинических образцах. Проводилась оценка влияния на значения Ct ингибиторов ПЦР, содержащихся в фекалиях, и применения различных амплификаторов: Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия), CFX 96 (Bio-Rad, США), «ДТ-96» (ДНК технология, Россия). Оценены риски перекрестной контаминации при проведении исследований. Выявлен асимметричный или бимодальный характер распределения значений Ct, связанный со случаями сочетанного выявления нескольких патогенов. Установлены следующие показатели, характерные для пациентов с моноинфекциями (Ct mean±SD): Rotavirus grA (Ct 20,63±6,35; n=978); Norovirus GII (Ct 23,09±6,14; n=794); Astrovirus (Ct 21,06±6,54; n=54); Adenovirus grF (Ct 8,42±2,4; n=42). Соответствующие значения для пострадавших при вспышках составили Norovirus GII (24,19±5,29; n=447), Rotavirus grA (18,65±4,16; n=50). Представлены рекомендации по практической интерпретации результатов real-time PCR. Косвенная характеристика содержания патогенов в образцах клинического материала, получаемая при проведении real-time ПЦР, дает важную информацию об ассоциации патогена с острой фазой заболевания. Высокая информативность данного вида исследований обеспечивает возможность его эффективного применения не только в целях этиологической диагностики, но также при выделении патогена у клинически здоровых людей и решении задач обследования объектов окружающей среды.

Ключевые слова: вирусные гастроэнтериты; ОТ-ПЦР в режиме реального времени. REAL-TIME.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60(6): 52–57.

Для корреспонденции: Подколзин Александр Тихонович, apodkolzin@pcr.ru

For correspondence: Podkolzin A.T., apodkolzin@pcr.ru