

- eration of myocardial revascularization performed under conditions of artificial circulation and on a working heart. *Kreativnaya kardiologiya*. 2011; 2: 60-70. (in Russian)
7. Grinshteyn U.I., Savchenko E.A., Filonenko I.V., Grinshteyn I.U., Savchenko A.A. Zilt in coronary atherosclerosis patients after coronary artery bypass graft surgery. Preliminary results of an open, randomized, comparative ZEUS study. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2008; 7(6): 43-9. (in Russian)
  8. Larsen S.B., Grove E.L., Neergaard-Petersen S., Würtz M., Hvas A.M., Kristensen S.D. Determinants of reduced antiplatelet effect of aspirin in patients with stable coronary artery disease. *PLoS One*. 2015; 10(5): 1267-9.
  9. Schneider D.J., Hardison R.M., Lopes N., Sobel B.E., Brooks M.M. Association between increased platelet P-selectin expression and obesity in patients with type 2 diabetes: a BARI 2D (Bypass Angioplasty Revascularization Investigation 2 Diabetes) substudy. *Diabetes Care*. 2009; 32(5): 944-9.
  10. McBane R.D., Hardison R.M., Sobel B.E. Comparison of plasminogen activator inhibitor-1, tissue type plasminogen activator antigen, fibrinogen, and D-dimer levels in various age decades in patients with type 2 diabetes mellitus and stable coronary artery disease (from the BARI 2D trial). *Am. J. Cardiol*. 2010; 105(1):17-24.
  11. Guedes A.F., Carvalho F.A., Moreira C., Nogueira J.B., Santos N.C. Essential arterial hypertension patients present higher cell adhesion forces, contributing to fibrinogen-dependent cardiovascular risk. *Nanoscale*. 2017; 9(39): 14897-906.
  12. Grytsay V.I. A mathematical model of the metabolic process of atherosclerosis. *Ukr. Biochem. J*. 2016; 88(4): 75-84.
  13. Panes O., González C., Hidalgo P., Valderas J.P., Acevedo M., Contreras S., et al. Platelet tissue factor activity and membrane cholesterol are increased in hypercholesterolemia and normalized by rosuvastatin, but not by atorvastatin. *Atherosclerosis*. 2017; 257: 164-71.
  14. Barkagan Z.S., Momot A.P. *Diagnosis and controlled therapy of hemostasis disorders* [Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза]. Moscow: N'yudimed; 2008. (in Russian)
  15. Kopec A.K., Abrahams S.R., Thornton S., Palumbo J.S., Mullins E.S., Divanovic S. et al. Thrombin promotes diet-induced obesity through fibrinogen-driven inflammation. *J. Clin. Invest*. 2017; 127(8): 3152-66.

Поступила 20.03.18  
Принята к печати 24.04.18

## ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.921.8-078.33

Скирда Т.А., Борисова О.Ю., Петрова М.С., Комбарова С.Ю.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТИВОКОКЛЮШНЫХ АНТИТЕЛ В ИММУНОФЕРМЕНТНОМ АНАЛИЗЕ

ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, г. Москва

Проведён сравнительный анализ эффективности выявления противокклюшных антител трёх классов (IgM, IgG, IgA) с помощью четырёх коммерческих тест-систем, используемых для серологической диагностики коклюша в Российской Федерации: RIDASCREEN («R-Biopharm AG», Германия), NOVATEC («Immunodiagnostica GmbH», Германия), DRG («DRG Diagnostics», Германия), SAVYON («Savyon Diagnostics», Израиль). В исследование включено 42 сыворотки крови больных коклюшем детей и взрослых, госпитализированных в ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» Департамента здравоохранения г. Москвы. Полное совпадение результатов исследования установлено в 40,5% случаев, в 42,9% выявлено неполное совпадение результатов по динамике выработки одного класса антител и в 9,5% случаев – несовпадение результатов по двум классам антител. Всего несовпадений результатов 7,1%. При определении антител класса IgM в сыворотке крови больных коклюшем наибольшее количество положительных результатов определено в тест-системе SAVYON – 83,3 ± 6,3% (35), NOVATEC – 71,4 ± 8,2% (30), RIDASCREEN – 61,9 ± 9,7% (26), DRG – 45,2 ± 11,7% (19). Антитела класса IgG во всех тест-системах определялись на одном уровне. Некоторые различия наблюдались в определении антител класса IgA. Высокая частота выявления IgA была в тест-системе RIDASCREEN – 59,5 ± 10,0% (25) и DRG – 50,0 ± 11,2% (21). В тест-системах NOVATEC и SAVYON этот показатель был ниже – 45,2 ± 11,7 и 26,2 ± 13,9% соответственно (19 и 11). Показано, что для серологических исследований может быть использована любая из четырёх тест-систем. Рекомендуется проводить диагностические исследования сывороток крови в одной выбранной тест-системе для получения сопоставимых результатов и интерпретировать результаты, полученные в одной тест-системе: при получении сомнительных результатов необходимо исследовать сыворотки в динамике одновременно в одной тест-системе.

Ключевые слова: иммуноферментный анализ; сыворотки крови; антитела; коклюш.

Для цитирования: Скирда Т.А., Борисова О.Ю., Петрова М.С., Комбарова С.Ю. Определение противокклюшных антител в иммуноферментном анализе. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63 (8): 505-510.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-505-510>

Skirda T.A., Borisova O.Yu., Petrova M.S., Kombarova S.Yu.

DEFINITION OF ANTI-PERTUSSIS ANTIBODIES BY ENZYME IMMUNOASSAY

G.N. Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russia

Для корреспонденции: Борисова Ольга Юрьевна, д-р мед. наук, доц., рук. лаб. диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций; e-mail: olgaborisova@mail.ru

*Comparative analysis of efficiency of identification the anti-pertussis of antibodies of three classes (IgM, IgG, IgA) by means of four commercial test systems used for serological diagnosis of whooping cough in the Russian Federation by RIDASCREEN (R-Bioharm AG, Германия), NOVATEC (Immunodiagnostica GmbH, Германия), DRG Diagnostics (Германия), Savyon Diagnostics (Israel) is carried out. The research included 42 serums of blood of the children and adults with whooping cough hospitalized in Infectious diseases clinical hospital No. 1 of the Moscow Department of Healthcare. In work the commercial test systems - RIDASCREEN (r-Biofarm, Германия), NOVATEC (Германия), DRG (Германия), Savyon (Israel) are used, according to instructions of producers. Complete coincidence of results of a research is established in 40,5% cases, in 42,9% not complete coincidence of results on dynamics of development of one class of antibodies is revealed and in 9,5% cases the discrepancy of results on two classes of antibodies is revealed. In total discrepancies of results - 7,1%. At determination of antibodies of the class IgM in serum of blood of patients with whooping cough the greatest number of positive results is defined in the SAVYON - 83,3±6,3% (35 serums), NOVATEC - 71,4±8,2% (30 serums), RIDASCREEN - 61,9±9,7% (26 serums), DRG - 45,2±11,7% (19 serums). Class IgG antibodies in all test systems were defined at one level. Some distinctions took place in determination of IgA. The high percent of identification of IgA was in the RIDASCREEN - 59,5±10,0% (25 serums) and DRG - 50,0±11,2% (21 serums). In the NOVATEC and SAVYON this percent was lower - 45,2±11,7% and 26,2±13,9%, respectively (19 and 11 serums). Thus, the research showed that for serological researches any of these 4 test systems can be used. It is recommended to conduct diagnostic testings of serums of blood in one chosen test system for obtaining comparable results and to interpret the results received in one test system when obtaining doubtful results it is necessary to investigate serums in dynamics at the same time in one test system.*

**Key words:** enzyme immunoassay; serum of blood; Ig; whooping cough.

**For citation:** Skirda T.A., Borisova O., Petrova M.S., Kombarova S.Yu. Definition of anti-pertussis antibodies by immunoassay. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63 (8): 505-510. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-505-510>

**For correspondence:** Borisova O. Yu., doctor of medicine (MD), docent, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections; e-mail: [olgborisova@mail.ru](mailto:olgborisova@mail.ru)

**Information about authors:**

Skirda T.A. <https://orcid.org/0000-0003-4140-1014>

Borisova O. <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>

Petrova M.S. <https://orcid.org/0000-0001-6065-2623>

Kombarova S.Yu. <https://orcid.org/0000-0003-3382-6178>

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 18.04.2018  
Accepted 25.05.2018

**Введение.** Одной из важнейших задач совершенствования лабораторной диагностики является разработка нормативной и методической документации, регламентирующей проведение диагностических исследований. Нормативные и методические документы разрабатываются и актуализируются с учётом современного уровня науки и развития высокочувствительных технологических приемов, базирующихся на принципах доказательной медицины. При коклюшной инфекции только в последние 3 года используются 3 метода лабораторной диагностики – бактериологический, серологический и молекулярно-генетический, применение которых определяется сроком развития заболевания и регламентируется санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.2.3162-14 «Профилактика коклюша». Наиболее эффективный метод – молекулярно-генетический. Серологическая диагностика является ретроспективной, однако её применение имеет важное значение при стёртых, атипичных формах заболевания, особенно у взрослых, а также в семейных очагах при установлении источника инфекции [1–3]. Согласно СП 3.1.2.3162-14 для серодиагностики применяется иммуноферментный анализ (ИФА). Отечественные ИФА-тест-системы отсутствуют, поэтому используются импортные тест-системы четырех производителей, зарегистрированные и разрешённые к применению в установленном порядке. Тест-системы сконструированы на основе различных антигенов возбудителя коклюша *Bordetella pertussis*: коклюшного токсина, филаментозного гемагглютинаина, полного экстракта антигенов *B. pertussis*.

Цель данной работы – сравнительный анализ эффек-

тивности выявления противокклюшных антител трёх классов (IgM, IgG, IgA) с помощью разных коммерческих тест-систем, используемых для серологической диагностики коклюша в Российской Федерации.

**Материал и методы.** В исследование включены 42 сыворотки крови больных коклюшем детей и взрослых, госпитализированных в ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» Департамента здравоохранения г. Москвы в течение 2016 г. Дети составляли большинство (31 (73,8%) пациент: в возрасте до года 10 детей, в возрасте 1 года 9 человек, 2–13 лет – 12 человек). Взрослые сформировали группу из 11 человек. Сыворотки получены на 8–35-й день от начала болезни. До момента исследования их хранили при -20°C.

Диагноз коклюша поставлен всем больным на основании клинических данных и результатов лабораторного обследования методом ПЦР или с помощью бактериологического исследования. Для ретроспективного подтверждения диагноза использовали коммерческую тест-систему RIDASCREEN («R-Biopharm AG», Германия).

Она же служила тест-системой сравнения в настоящем исследовании, в котором также использованы тест-системы NOVATEC («Immunodiagnostica GmbH», Германия), DRG («DRG Diagnostics», Германия), SAVYON («Savyon Diagnostics», Израиль) в соответствии с инструкциями по применению.

**Результаты и обсуждение.** Проведено исследование сывороток крови больных коклюшем детей разных возрастов и взрослых в ИФА-тест-системах, разрешённых к использованию и зарегистрированных в Российской Федерации. В структуре *B. pertussis* антигенами, спо-

собными индуцировать протективный иммунный ответ, являются коклюшный токсин, филаментозный гемагглютинин, белок наружной мембраны – пертактин. Для создания ИФА-тест-систем, как правило, используют коклюшный токсин и филаментозный гемагглютинин.

Микропланшеты использованных в данной работе тест-систем ИФА были покрыты обогащёнными фракциями коклюшного токсина (NOVATEC), коклюшного токсина и филаментозного гемагглютинина (DRG, SAVYON); в тест-системе RIDASCREEN коклюшный токсин и филаментозный гемагглютинин применялись для выявления антител классов IgG и IgA, для выявления антител класса IgM использован полный экстракт антигенов *B. pertussis*.

Положительным результатом считали в тест-системе RIDASCREEN уровень IgM-AT > 17 Ед/мл, IgG-AT > 18 Ед/мл, IgA-AT > 26 Ед/мл; в SAVYON уровень IgM-AT COI > 1,1, IgG-AT > 1;1, IgA-AT COI > 1,1; в NOVATEC уровень IgM-AT > 11 NTU, IgG-AT > 11 NTU, IgA-AT > 11 NTU; в DRG уровень IgM-AT > 11 DU, IgG-AT > 11 DU, IgA-AT > 11 DU. При обработке результатов исследования сывороток не учитывали серую зону, результаты разделили на положительные и отрицательные (выше cut off (пороговый уровень) – положительный результат, ниже – отрицательный).

Панель сывороток в количестве 42 разморожена и в течение 2 последовательных дней проставлена в четырёх тест-системах однократно согласно прилагаемым инструкциям по применению. Всего проведено 504 исследования. В качестве тест-системы сравнения была использована RIDASCREEN, с помощью которой ранее в течение нескольких лет проводили диагностические серологические исследования на коклюш [2–4]. Определение антител классов IgM, IgG, IgA выполнено по единому формату:

1. Определение положительных и отрицательных ответов в каждой тест-системе;

2. Положительные результаты, полученные в тест-системе сравнения RIDASCREEN, сопоставляли с результатами соответствующих номеров сывороток, полученных в трёх других изучаемых тест-системах NOVATEC, DRG, SAVYON.

3. Отрицательные результаты, полученные в тест-системе сравнения RIDASCREEN, сопоставляли с результатами соответствующих номеров сывороток, полученных в трёх изучаемых тест-системах NOVATEC, DRG, SAVYON.

**Определение противокклюшных антител класса IgM.** Из 42 сывороток положительные результаты по выявлению антител класса IgM получены в 26 (61,9%) сыворотках крови, исследованных в тест-системе RIDASCREEN, и в 35 (83,3%), 30 (71,4%) и 19 (45,2%) сыворотках, исследованных в SAVYON, NOVATEC и DRG соответственно (табл. 1).

Антитела класса IgM к возбудителю коклюша не выявлены в 16 (38,1%) сыворотках, исследованных в тест-системе RIDASCREEN, и в 7 (16,7%), 12 (28,6%) и 23 (54,8%) сыворотках, исследованных в SAVYON, NOVATEC и DRG соответственно (см. табл. 1).

Далее согласно выбранному формату исследования номера сывороток, в которых выявлены антитела класса IgM в RIDASCREEN (26 сывороток, их доля принята за 100%), были сопоставлены с соответствующими номерами сывороток и результатами по выявлению в них антител данного класса в SAVYON, NOVATEC и DRG.

В тест-системах SAVYON и NOVATEC в 25 (96,1%) сыворотках крови выявлены антитела класса IgM, в одной (3,9%) сыворотке антитела не выявлены. В тест-системе DRG в 19 (73,1%) сыворотках выявлены IgM и в 7 (26,9%) антитела не выявлены. Таким образом, сопоставимые положительные результаты по выявлению антител класса IgM получены в тест-системах RIDASCREEN, SAVYON и NOVATEC по сравнению с DRG, в которой получены 7 отрицательных результатов. Следует отметить, что отрицательные результаты были близки к серой зоне, что может быть связано с особенностями конструирования тест-системы (см. табл. 1). Номера сывороток, в которых не выявлены антитела класса IgM в RIDASCREEN (16; 100%), сопоставлены с соответствующими номерами сывороток и результатами по выявлению в них антител данного класса в SAVYON, NOVATEC и DRG. В тест-системах SAVYON и NOVATEC отрицательными были 6 (37,5%) и 12 (75%) сывороток соответственно. В 10 (62,5%) сыворотках, исследованных в SAVYON, и в 4 (25%) – в NOVATEC, выявлены антитела класса IgM, которые в тест-системах RIDASCREEN и DRG были серонегативными (см. табл. 1).

Таким образом, наибольшее количество сывороток с выявленными антителами класса IgM установлено в тест-системе SAVYON – 83,3%. В тест-системах RIDASCREEN и NOVATEC результаты были сопоставимы (61,9 и 71,4% соответственно). В тест-системе DRG отмечен невысокий уровень выявления антител класса IgM – 45,2% (табл. 2). Наиболее высокая частота (83,3%) выявления антител класса IgM в тест-системе SAVYON, возможно, связана с более высокой чувствительностью данной тест-системы. Этот вывод представляется вполне обоснованным, поскольку исследовали сыворотки крови от больных коклюшем, у которых клинический диагноз подтвержден в ПЦР и бактериологическом исследовании. Различия в получении положительных и отрицательных результатов связаны с конструктивными особенностями тест-систем: сорбцией разных антигенов и их концентрацией, степенью очистки, разным соотношением субклассов антител в конъюгатах и др.

**Определение противокклюшных антител класса IgG.** Положительные результаты по выявлению антител класса IgG к возбудителю коклюша выявлены в 29 (69,1%) сыворотках, исследованных в тест-системе RIDASCREEN, и в 29 (69,1%), 26 (61,9%) и 28 (66,7%) сыворотках, исследованных в тест-системах SAVYON, NOVATEC и DRG соответственно. Отрицательные результаты по выявлению антител класса IgG к возбудителю коклюша выявлены в 13 (30,9%) сыворотках, исследованных в тест-системе RIDASCREEN, и в 13 (30,9%), 16 (38,1%) и 14 (33,3%) сыворотках, исследованных в тест-системах SAVYON, NOVATEC и DRG соответственно (табл. 3).

Номера сывороток, в которых выявлены антитела класса IgG в RIDASCREEN (29; 100%), сопоставлены с соответствующими номерами сывороток и результатами по выявлению в них антител данного класса в SAVYON, NOVATEC и DRG. В тест-системе SAVYON в 28 (96,5%) сыворотках крови выявлены антитела класса IgG и в 1 (3,5%) – не выявлены. В тест-системе NOVATEC в 26 (89,7%) сыворотках выявлены IgG и в 3 (10,3%) сыворотках – не выявлены, в DRG 27 (93,1%) сывороток были серопозитивными и 2 (6,9%) – серонегативными (табл. 3). Полученные положительные результаты в тестируемых наборах были сопоставимы, однако в тест-системах

Удельный вес отрицательных и положительных результатов по определению антител класса IgM

Тест-системы	Всего сывороток	IgM		Удельный вес положительных и отрицательных результатов по определению IgM					
		IgM+	IgM-	в сравнении с положительными результатами в RIDASCREEN			в сравнении с отрицательными результатами в RIDASCREEN		
				абс/%	абс/%	всего IgM+	IgM+ абс/%	IgM- абс/%	всего IgM-
RIDASCREEN	42	26/61,9 ± 9,7	16/38,1 ± 12,5	26	26/100	-	16	16/100	-
SAVYON	42	35/83,3 ± 6,3	7/16,7 ± 15,2	26	25/96 ± 5,8	1/3,9	16	6/37 ± 21,6	10/62,5 ± 16,1
NOVATEC	42	30/71,4 ± 8,2	12/28,6 ± 13,6	26	25/96 ± 5,8	1/3,9	16	12/75,0 ± 13,1	4/25 ± 25,0
DRG	42	19/45,2 ± 11,7	23/54,8 ± 10,6	26	19/73 ± 10,4	7/26,9 ± 18,1	16	100	-

RIDASCREEN, SAVYON, DRG они были несколько выше, чем в NOVATEC.

Номера сывороток, в которых не выявлены антитела класса IgG в RIDASCREEN (13; 100%), сопоставлены с соответствующими номерами сывороток и результатами по выявлению в них антител данного класса в SAVYON, NOVATEC и DRG.

В NOVATEC все 13 сывороток были также отрицательными по определению антител класса IgG. В тест-системах SAVYON и DRG отрицательными были 12 (92,3%) сывороток и 1 (7,7%) результат был положительным. Полученные отрицательные результаты во всех тест-системах были сопоставимы (см. табл. 3).

Таким образом, из 42 сывороток крови наибольшее количество сывороток с выявленными антителами класса IgG установлено в тест-системе RIDASCREEN – 69,1% и SAVYON – 69,1%, в DRG аналогичный показатель – 66,7%, в NOVATEC – 61,9% (табл. 2). Можно предположить, что использование в качестве антигена коклюшного токсина и филаментозного гемагглютини-на (RIDASCREEN, DRG, SAVYON) повышает чувствительность тест-набора по сравнению с тест-системой NOVATEC, в которой в качестве антигенов использованы только обогащённые фракции коклюшного токсина.

**Определение противококлюшных антител класса IgA.** Положительные результаты при выявлении антител класса IgA к возбудителю коклюша получены в 25 (59,5%) сыворотках, исследованных в тест-системе RIDASCREEN, и в 11 (26,2%), 19 (45,2%) и 21 (50%) сыворотках, исследованных в тест-системах SAVYON, NOVATEC и DRG соответственно.

Отрицательные результаты выявления антител класса IgA к возбудителю коклюша получены в 17 (40,5%) сыворотках, исследованных в тест-системе RIDASCREEN, и в 31 (73,8%), 23 (54,8%) и 21 (50%) сыворотках, исследованных в тест-системах SAVYON, NOVATEC и DRG соответственно (см. табл. 4).

Таким образом, получены сопоставимые результаты выявления антител класса IgA в тест-системах RIDASCREEN, DRG и NOVATEC (59,5, 50,0 и 45,2% соответственно) и несколько ниже – в SAVYON – 26,2%.

Номера сывороток, в которых выявлены антитела класса IgA в RIDASCREEN (25; 100%), сопоставлены с соответствующими номерами сывороток и результатами по выявлению в них антител данного класса в SAVYON, NOVATEC и DRG. В тест-системе DRG в 21 (84%) сыворотке крови выявлены антитела класса IgA и в 4 (16%) – не выявлены. В тест-системах NOVATEC и SAVYON в 19 (76%) и 11 (44%) сыворотках соответственно выявлены IgA

и в 6 (24%) и 14 (56%) соответственно – не выявлены. Таким образом, из 25 сывороток с выявленными антителами класса IgA в RIDASCREEN положительными были в DRG 21 (84%), в NOVATEC – 19 (76%), в SAVYON – 11 (44%).

Номера сывороток, в которых не выявлены антитела класса IgA в RIDASCREEN (17; 100%), сопоставлены с соответствующими номерами сывороток и результатами по выявлению в них антител данного класса в SAVYON, NOVATEC и DRG. Во всех тест-системах получены отрицательные результаты (см. табл. 4).

Таким образом, из 42 сывороток крови наибольшее количество образцов с выявленными антителами класса IgA было в тест-системе RIDASCREEN – 25 (59,5%), DRG – 21 (50%), NOVATEC – 19 (45,2%). В тест-системе SAVYON положительных результатов было 11 (26,2%) (см. табл. 2).

Серологические методы лабораторной диагностики коклюшной инфекции основываются на определении уровня специфических антител (IgM, IgA, IgG) к определённым антигенам/группам антигенов *B. pertussis*. Длительное время для оценки постинфекционного и поствакцинального иммунитета использовались такие методы, как реакция агглютинации в пробирках и реакция прямой гемагглютинации. Эти методы позволяют выявить в биологическом материале антитела, индуцированные корпускулярными антигенами *B. pertussis*. Основным и определяющим их недостатком является низкая чувствительность и выявление только суммарной популяции антител. В настоящее время в большинстве стран мира эти методы признаны устаревшими. В Российской Федерации эти методы в настоящее время еще используются для оценки поствакцинального иммунитета в рамках серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к возбудителю коклюша согласно методическим указаниям МУ 3.1.2943-11 «Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш,

Удельный вес сывороток с выявленными антителами классов IgM, IgG, IgA в исследуемых тест-системах

Тест-система	Всего сывороток	IgM+, абс/%	IgG+, абс/%	IgA+, абс/%
RIDASCREEN	42	26/61,9 ± 9,7	29/69,1 ± 8,7	25/59,5 ± 10,0
SAVYON	42	35/83,3 ± 6,3	29/69,0 ± 8,7	11/26,2 ± 13,9
NOVATEC	42	30/71,4 ± 8,2	26/61,9 ± 9,7	19/45,2 ± 11,7
DRG	42	19/45,2 ± 11,7	28/66,7 ± 9,1	21/50,0 ± 11,2

Таблица 3

**Удельный вес отрицательных и положительных результатов по определению антител класса IgG**

Тест-системы	Всего сывороток	IgG		Удельный вес положительных и отрицательных результатов по определению IgG					
		IgG+	IgG-	в сравнении с положительными результатами в RIDASCREEN			в сравнении с отрицательными результатами в RIDASCREEN		
				абс/%	абс/%	всего IgG+	IgG+	IgG-	всего IgG-
RIDASCREEN	42	29/69,1 ± 8,7	13/30,9 ± 13,3	29	29/100	-	13	13/100	-
SAVYON	42	29/69,1 ± 8,7	13/30,9 ± 13,3	29	28/96,5 ± 3,5	1/3,5	13	12/92,0 ± 8,0	1/7,7
NOVATEC	42	26/61,9 ± 9,7	16/38,1 ± 12,5	29	26/89,7 ± 6,1	3/10,3	13	13/100	-
DRG	42	28/66,7 ± 9,1	14/33,3 ± 13,1	29	27/93,1 ± 4,9	2/6,9	13	12/92,3 ± 8,0	1/7,7

корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В)».

В 80-е годы XX века широкое распространение получил ИФА для выявления антител к возбудителю коклюша [4–6]. Во многих странах разработаны различные варианты тест-систем ИФА, основанные на раздельном или одновременном выявлении в исследуемом материале антител классов IgM, IgA и IgG [7–9]. В качестве антигенов используются различные компоненты коклюшного микроба: дезинтегрированные химическим, физическим или механическим способами бактериальные клетки [6], комплексы антигенов [4] или отдельные антигены (коклюшный токсин, филаментозный гемагглютинин, пертактин, фимбриальные белки, липополисахарид) возбудителя [4, 5]. Оценку уровня сывороточных антител проводят однократно [10] или двукратно при исследовании парных сывороток, взятых с интервалом 10–14 дней.

Как правило, уровень антител методом ИФА определяют в сыворотке крови человека. В некоторых случаях исследуемым материалом является слюна больного. Чувствительность и специфичность ИФА, основанного на выявлении антител класса IgG к коклюшному токсину в слюне, составили 79,7 и 96,6 % соответственно [11]. При этом определение уровня антител класса IgA к коклюшному токсину и филаментозному гемагглютинину в слюне больного имеет низкое диагностическое значение [12].

В настоящее время использование ИФА для выявления антител IgA, IgG, IgM в сыворотке крови в практическом здравоохранении Российской Федерации позволяет подтвердить диагноз коклюша при лёгких и стёртых формах заболевания, информативно для непривитых детей старше 1 года и взрослых [1, 2]. Недостатки серологической диагностики состоят в том, что этот метод используется в основном ретроспективно (с 3-й недели заболевания), имеются трудности в интерпретации диа-

гноза на основе полученных данных у привитых и детей первого полугодия жизни, у которых на ранних сроках болезни результаты серодиагностики могут быть отрицательными, и лишь обследование в динамике (повторно на 4–5-й неделе болезни) может подтвердить диагноз [2, 3]. Кроме того, на данный момент отсутствуют зарегистрированные отечественные ИФА-тест-системы.

Поэтому в настоящее время назрела необходимость провести сравнительный анализ эффективности выявления постинфекционных противокклюшных антител трёх классов у больных коклюшем с помощью зарегистрированных тест-систем зарубежного производства с целью формулирования практических рекомендаций относительно возможностей их использования и правильной интерпретации полученных результатов. Сравнительный анализ эффективности выявления противокклюшных антител классов IgM, IgG и IgA у больных коклюшем с помощью коммерческих тест-систем RIDASCREEN, NOVATEC, DRG, SAVYON показал, что для серологических исследований может быть использована любая из этих тест-систем. При исследовании 42 сывороток полное совпадение результатов определялось в 17 (40,5%) сыворотках во всех четырёх тест-системах, в том числе антитела классов IgM, IgG, IgA выявлены в 12 (28,6%) сыворотках, 5 (11,9%) сывороток оказались серонегативными по всем трём классам антител. В 18 (42,9%) сыворотках из 42 выявлено неполное совпадение результатов по динамике выработки одного класса антител, в 4 (9,5%) сыворотках отмечено несовпадение результатов по двум классам антител. Различия в выявляемости антител в разных тест-системах может быть связано с особенностями диагностических наборов: сорбцией разных антигенов и их концентрацией, степенью очистки, разным соотношением субклассов антител в конъюгатах и др. Несоответствие результатов определено в 3 (7,1%) сыворотках у детей первого года жизни (3, 5 и 7 мес). Различия

Таблица 4

**Удельный вес отрицательных и положительных результатов по определению антител класса IgA**

Тест-системы	Всего сывороток	IgA		Удельный вес положительных и отрицательных результатов по определению IgA					
		IgA+	IgA-	в сравнении с положительными результатами в RIDASCREEN			в сравнении с отрицательными результатами в RIDASCREEN		
				абс/%	абс/%	всего IgA+	IgA+	IgA-	всего IgA-
RIDASCREEN	42	25/59,5 ± 10,0	17/40,5 ± 12,3	25	25/100	-	17	17/100	-
SAVYON	42	11/26,2 ± 13,9	31/73,8 ± 7,9	25	11/44,0 ± 15,7	14/56,0 ± 13,8	17	17/100	-
NOVATEC	42	19/45,2 ± 11,7	23/54,8 ± 10,6	25	19/76,0 ± 10,1	6/24,0 ± 19,1	17	17/100	-
DRG	42	21/50,0 ± 11,2	21/50,0 ± 11,2	25	21/84,0 ± 8,2	4/16,0 ± 21,2	17	17/100	-

заклучались в том, что в одних тест-системах выявлялся 1 или 2 класса антител, а в других сыворотки были серонегативными по 3 классам антител. Вероятно, при исследовании парных сывороток крови в динамике могут быть получены схожие результаты. Возможно, это связано с разной чувствительностью тест-систем. Кроме того, заболевшие дети первого года жизни были не привиты, что связано с соматическим состоянием детей и, возможно, с медицинскими отводами вследствие этого. Кроме того, иммунная система у детей первого года жизни имеет возрастные особенности, и у них наблюдается замедленное формирование иммунного ответа.

При определении антител класса IgM в сыворотке крови больных коклюшем наибольшее количество положительных результатов установлено в тест-системе SAVYON –  $83,3 \pm 6,3\%$  (35 сывороток), NOVATEC –  $71,4 \pm 8,2\%$  (30 сывороток), RIDASCREEN –  $61,9 \pm 9,7\%$  (26 сывороток), DRG –  $45,2 \pm 11,7\%$  (19 сывороток). Антитела класса IgG во всех тест-системах определялись на одном уровне – в тест-системах RIDASCREEN и SAVYON –  $69,0 \pm 8,7\%$  (29 сывороток), DRG –  $66,7 \pm 9,1\%$  (28 сывороток) и NOVATEC –  $61,9 \pm 9,7\%$  (26 сывороток). Некоторые различия имели место в определении антител класса IgA. Высокая частота выявления IgA отмечена в тест-системе RIDASCREEN –  $59,5 \pm 10,0\%$  (25 сывороток) и DRG –  $50,0 \pm 11,2\%$  (21 сыворотка). В тест-системах NOVATEC и SAVYON этот показатель был ниже –  $45,2 \pm 11,7$  и  $26,2 \pm 13,9\%$  соответственно (19 и 11 сывороток).

**Заключение.** Сравнительный анализ эффективности выявления противокклюшных антител классов IgM, IgG и IgA у больных коклюшем с помощью коммерческих тест-систем RIDASCREEN, NOVATEC, DRG, SAVYON показал, что для серологических исследований может быть использована любая из них. Учитывая разную чувствительность тест-систем, связанную с особенностями их создания, для диагностических целей рекомендуется проводить исследования сывороток крови в одной выбранной тест-системе для получения сопоставимых результатов и интерпретировать результаты, полученные в одной тест-системе; при получении сомнительных результатов необходимо исследовать сыворотки в динамике одновременно в одной тест-системе. В данной работе оценены 4 тест-системы ИФА для серологической диагностики коклюша. Вместе с тем регистрация сопоставимых практически на одном уровне результатов выявления антител класса IgG свидетельствует о перспективе использования тест-систем ИФА и для оценки поствакцинального иммунитета в системе серомониторинга коклюшной инфекции.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 4-12 см. REFERENCES)

1. Попова О.П., Скирда Т.А., Федорова И.М., Петрова М.С., Борисова О.Ю., Комбарова С.Ю. и др. Диагностическая ценность метода ИФА при коклюше у детей. *Детские инфекции*. 2016;15 (2): 36-40.

2. Грачева Н.М., Малышев Н.А., Петрова М.С., Попова О.П., Борисова О.Ю., Келли Е.И. *Коклюш (клиника, диагностика, лечение): методические рекомендации*. М.: Департамент здравоохранения города Москвы; 2009.

3. Попова О.П., Скирда Т.А., Федорова И.М., Котелева С.И. Особенности специфического гуморального ответа и цитокиновой регуляции при коклюше у детей. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20 (5): 42-8.

#### REFERENCES

1. Popova O.P., Skirda T.A., Fedorova I.M., Petrova M.S., Borisova O.YU., Kombarova S.Yu. et al. Diagnosticheskaya cennost' metoda IFA pri koklyushe u detej. *Detskie infektsii*. 2016; 15(2): 36-40. (in Russian)
2. Gracheva N.M., Malyshev N.A., Petrova M.S., Popova O.P., Borisova O.YU., Kelli E.I. Koklyush (klinika, diagnostika, lechenie): metodicheskie rekomendacii. Moscow: Departament zdavoohraneniya goroda Moskvu; 2009. (in Russian)
3. Popova O.P., Skirda T.A., Fedorova I.M., Koteleva S.I. Osobennosti specificheskogo gumoral'nogo otveta i citokinovoj regulyacii pri koklyushe u detej. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2015; 20(5): 42-8. (in Russian)
4. He Q., Mertsola J., Himanen J.P., Ruuskanen O., Viljanen M.K. Evaluation of pooled and individual components of Bordetella pertussis as antigens in an enzyme Immunoassay for diagnosis of pertussis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1993; 12(9): 690-5.
5. Mertsola J., Ruuskanen O., Kuronen T., Meurman O., Viljanen M.K. Serologic diagnosis of pertussis: evaluation of pertussis toxin and other antigens in enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Infection Diseases*. 1990; 161 (5): 966-71.
6. Viljanen M.K., Ruuskanen O., Granberg C., Salmi T.T. Serological diagnosis of pertussis: IgM, IgA and IgG anti-bodies against Bordetella pertussis measured by enzymelinked immunosorbent assay (ELISA). *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 1982; 14 (2): 117-22.
7. Giammanco A., Nardone A., Pebody R., Kafatos G., Andrews N., Chiarini A. et al. European sero-epidemiology network 2: standardisation of immunoassay results for pertussis requires homogeneity in the antigenic preparations. *Vaccine*. 2008; 26 (35): 4486-93.
8. He Q., Mertsola J., Soini H., Skurnik M., Ruuskanen O., Viljanen M.K. Comparison of polymerase chain reaction with culture and enzyme immunoassay for diagnosis of pertussis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1993; 31 (3): 642-5.
9. Riffelmann M., Thiel K., Schmetz J., Wirsing von Koenig C. H. Performance of commercial enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to Bordetella pertussis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48 (12): 4459-63.
10. Sanz Moreno J.C., de Ory Manchon F., Gonzales A.J., de La Torre J.L., Salmeron F., Limia A. Laboratory diagnosis of pertussis. Role of serology. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*. 2002; 20 (5): 212-8.
11. Litt D.J., Samuel D., Duncan J., Harnden A., George R.C., Harrison T.G. Detection of anti-pertussis toxin IgG in oral fluids for use in diagnosis and surveillance of Bordetella pertussis infection in children and young adults. *Journal of Medical Microbiology*. 2006; 55 (9): 1223-8.
12. Zackrisson G., Lagergard T., Trollfors B., Krantz I. Immunoglobulin A antibodies to pertussis toxin and filamentous hemagglutinin in saliva from patients with pertussis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990; 28 (7): 1502-5.

Поступила 18.04.18

Принята к печати 25.05.18