

РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ИФА ТЕСТ-СИСТЕМ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ IgM-КОРЬ АНТИТЕЛ В РАЗНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОНАХ

М.А. Бичурина, Н.В. Железнова, И.Н. Лаврентьева, А.Ю. Антипова,
Л.Б. Куляшова, Арег А. Тотолян

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Признанным ВОЗ стандартом лабораторного подтверждения диагноза «корь» является выявление в сыворотке крови больных методом ИФА IgM-корь антител. Ранее было показано, что IgM-корь определены в 97,2–100% сывороток больных с помощью тестов формата «capture» (Microimmun Ltd. и Вектор-Бест), но при использовании тест-систем формата «indirect» (Siemens, Германия) доля положительных сывороток не превышала 63,9%. И напротив, при использовании одной из тест-систем для выявления IgM-корь формата «indirect» (Euroimmun, Германия) были получены ложноположительные результаты. Цель работы: сравнительная оценка тест-систем разного формата при исследовании сывороток крови на IgM-антитела от лиц из разных географических зон. **Материалы и методы.** Клинические образцы (n = 108), получены в 2015–2017 гг. от здоровых взрослых жителей Гвинейской Республики (ГР); от больных 1–70 лет с первичными диагнозами «инфекционный мононуклеоз», «цитомегаловирусная инфекция» и «краснуха» из банка сывороток лаборатории СПбРЦ по надзору за корью и краснухой в СЗФО. Использовали тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест», Россия («capture» формат) и производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostik AG, Германия («indirect» формат). Наличие антител к вирусу Эпштейна–Барр определяли в ИФА с тест-системами производства НПО «Диагностические системы», Россия («ДС-ИФА-Анти-ВЭБ-VCA-M», «ДС-ИФА-Анти-ВЭБ-EA-G», «ДС-ИФА-Анти-ВЭБ-NA-G»). **Результаты и обсуждение.** При исследовании сывороток крови от здоровых и больных лиц, проживающих на территории СЗФО и в Гвинейской Республике, в ИФА с тест-системой «ВектоКорь IgM» антитела IgM-корь не были выявлены. Отсутствие острой инфекции также подтверждено наличием высокого уровня IgG-антител и высоким процентом авидности IgG-корь антител. При исследовании этих же сывороток в ИФА с тест-системой Euroimmun, Германия, выявлено 6 положительных сывороток (5,5%), в которых обнаружены также антитела к вирусу Эпштейна–Барр (ВЭБ). Полученные результаты можно рассматривать как неспецифическую реакцию, обусловленную возможной перекрестной реакцией с антителами против ВЭБ, что предусмотрено фирмой-производителем. Выявлено преобладание ложноположительных реакций у лиц, постоянно проживающих в ГР (8,5±4,0%), по отношению к гражданам РФ (3,2±2,2%). Полученные данные оцениваются как предварительные. Для получения окончательных результатов следует увеличить объем выборки исследуемых сывороток.

Ключевые слова: корь, специфические антитела, тест-системы, метод ИФА, «capture» формат, «indirect» формат, перекрестная реактивность.

Адрес для переписки:

Антипова Анастасия Юрьевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, ФБУН НИИ
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 232-94-11 (служебн.).
Факс: 8 (812) 233-20-92.
E-mail: anti130403@mail.ru

Contacts:

Anastasiya Yu. Antipova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 232-94-11 (office).
Fax: +7 (812) 233-20-92.
E-mail: anti130403@mail.ru

Библиографическое описание:

Бичурина М.А., Железнова Н.В., Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю.,
Куляшова Л.Б., Тотолян Арег А. Предварительные результаты
сравнительного изучения ИФА тест-систем разного формата
при определении IgM-корь антител в разных географических зонах //
Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 2. С. 230–234. doi: 10.15789/2220-
7619-2018-2-230-234

Citation:

Bichurina M.A., Zheleznova N.V., Lavrentieva I.N., Antipova A.Yu.,
Kulyashova L.B., Totolian Areg A. Comparative study of ELISA test-systems
of different formats for detection of measles virus specific IgM in different
geographic zones. Preliminary results // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2018, vol. 8, no. 2, pp. 230–234.
doi: 10.15789/2220-7619-2018-2-230-234

STUDY OF ELISA TEST-SYSTEMS OF DIFFERENT FORMATS FOR DETECTION OF MEASLES VIRUS SPECIFIC IgM IN DIFFERENT GEOGRAPHIC ZONES

Bichurina M.A., Zheleznova N.V., Lavrentieva I.N., Antipova A.Yu., Kulyashova L.B., Totolian Areg A.

St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Detection of the measles virus (MV) specific IgM antibodies in blood serum of patients is considered to be the main standard for the laboratory confirmation of measles diagnosis, the test being acknowledged by WHO. As it was demonstrated earlier the specific IgM antibodies as the marker of the acute MV infection were detected in 97.2–100% of blood serum samples from patients using the ELISA test-systems of the “capture” format (Microimmun Ltd. and Vector Best). In case when the ELISA test-system of the “indirect” format (Siemens, Germany) was used only 63.9% of these sera turned to be IgM positive. And on the contrary using the “indirect” format ELISA test-system Euroimmun, Germany, for detection of the MV specific IgM the false positive results were obtained. The aim of the study was the comparative evaluation of the different format ELISA test-systems used for the detection of the MV specific IgM antibodies in blood sera of patients and healthy adults collected in different geographic zones. *Materials and methods.* In total 108 serum specimens collected in 2015–2017 were studied: from healthy adult Guineans, residents of the Republic of Guinea (RG); patients aged 1–70 with the initial “infectious mononucleosis”, “infectious cytomegalovirus” and “rubella” diagnosis and taken from the bank of sera in the Subnational Measles/Rubella laboratory, StP Measles/Rubella RC in NWFR. The MV specific IgM antibodies were detected using the commercial ELISA test-systems “VectoMeasles-IgM” (Vector-Best, Russia) (“capture” format) and “Anti-Measles Virus ELISA IgM (NP)” (Euroimmun Medizinische Labordiagnostik AG, Germany) («indirect» format). The specific Epstein-Barr Virus (EBV) IgM and IgG antibodies were detected with the commercial ELISA test-systems «DS-ELISA-anti-EBV-VCA-M», «DS-ELISA-anti-EBV-EA-G» and «DS-ELISA-anti-EBV-NA-G» (“Diagnostic Systems”, Russia). *Results and discussion.* The MV specific IgM antibodies were not revealed in the total of 108 blood serum samples from the healthy adults and patients, residents of the Russia and of the RG, with the “capture” format “VectoMeasles-IgM” ELISA test-system. The absence of the acute MV infection was also confirmed by the high measles immunity level (i.e. IgG MV antibodies titers) as well as by detection of the IgG antibodies of high avidity. At the same time in 6 of 108 total sera (5.5%) IgM MV antibodies were detected with the «indirect» format ELISA test system Euroimmun, Germany. In these 6 sera the EBV specific antibodies were also evidenced. The results obtained demonstrate the nonspecific reaction due to the possible reactivity with anti-EBV antibodies. Besides this the different percentage of the false positive reactions in sera from healthy adults, residents of the RG and residents of Russia was determined — $8.5 \pm 4.0\%$ and $3.2 \pm 2.2\%$ correspondently. Thus the preliminary results, and to get the final results for general conclusions increase of the total amount of the clinical specimens under studying is of extremely importance.

Key words: measles, specific antibodies, test-systems, ELISA method, “capture” format, “indirect” format, cross reactivity.

Введение

Корь до настоящего времени остается одной из причин детской смертности не только в развивающихся странах, но в отдельные годы приводит к возникновению крупных вспышек и в индустриальных странах [2, 3, 6, 7]. Так, были зарегистрированы большие вспышки кори даже в странах Европейского региона ВОЗ — Болгарии, Румынии, Италии и других [5, 7]. Однако, несмотря на то, что имеются высоко иммуногенные вакцины против кори, не во всех странах достигнут высокий ($\geq 95\%$) уровень охвата вакцинацией детей, особенно раннего возраста. Стратегический план, принятый ВОЗ, предусматривает элиминацию кори, краснухи и врожденной краснухи к 2020 г.

Имеется ряд проблем и в лабораторной диагностике кори. Признанным ВОЗ основным стандартом лабораторного подтверждения диагноза «корь» является выявление в сыворотке крови больных методом ИФА IgM-корь антител [4]. Для этой цели используются

коммерческие тест-системы разных форматов: непрямой, «indirect», и метод двойного сэндвича — «capture». В работах Т.А. Мамаевой с соавт. показаны ограничения при использовании тест-систем для выявления IgM-АТ формата «indirect» в диагностике коревой инфекции у больных, имевших в анамнезе противокоревую вакцинацию [1]. Маркеры острой инфекции (IgM) определены в 100 и 97,2% сывороток больных с помощью тестов формата «capture» — Вектор-Бест и Microimmun Ltd. соответственно. При исследовании сывороток в тест-системах формата «indirect» положительных сывороток было выявлено меньше: фирмы Siemens (Германия) — 68,1%, Euroimmun (Германия) — 63,9%.

В других работах [2] напротив показано, что у практически здоровых лиц в одной из тест-систем формата «indirect» (Euroimmun, Германия) были выявлены IgM-положительные сыворотки, которые оказались отрицательными при исследовании этих сывороток в тест-системах формата «capture». При этом в ин-

струкции к тест-системе Euroimmun (Германия) указано на возможность ложноположительных результатов при определении IgM-корь антител при наличии IgM-антител против вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ).

Цель работы — сравнительная оценка тест-систем разного формата при исследовании сывороток крови на IgM-антитела от лиц из разных географических зон.

Материалы и методы

Исследованы сыворотки крови:

— от 47 практически здоровых лиц в возрасте от 24 лет до 71 года, постоянно проживающих в Гвинейской Республике, кровь взята в 2015–2016 гг.;

— от 23 больных в возрасте от 1 года до 70 лет с первичными диагнозами «инфекционный мононуклеоз» и «краснуха», сыворотки крови поступили с 11 территорий Северо-Западного федерального округа (СЗФО) РФ в Санкт-Петербургский Региональный Центр (СПбРЦ) по надзору за корью и краснухой в 2016–2017 гг. в рамках Программы элиминации кори, краснухи и врожденной краснухи в РФ;

— от 38 больных в возрасте до 14 лет с первичными диагнозами «инфекционный мононуклеоз» и «цитомегаловирусная инфекция» из одной из клиник Санкт-Петербурга в 2017 г.

Всего исследованы в ИФА на IgM-корь антитела сыворотки крови от 108 лиц.

Для определения противокоревых IgM-антител методом ИФА использовали тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест», Россия («capture» формат) и производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Германия («indirect» формат). Для определения IgG-корь антител в ИФА была использована тест-система «ВектоКорь IgG», Россия; для определения уровня авидности IgG-корь антител использована тест-система «Avidity: Anti-Measles Virus ELISA (IgG)» производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Германия.

Для определения противокраснушных (IgM) антител использовали тест-системы производства ЗАО «ЭКОлаб», Россия («capture» формат) и тест-системы производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Германия («indirect» формат).

Наличие антител к вирусу Эпштейна–Барр определяли в ИФА с тест-системами производства НПО «Диагностические системы», Россия («ДС-ИФА-Анти-ВЭБ-VCA-M», «ДС-ИФА-Анти-ВЭБ-EA-G», «ДС-ИФА-Анти-ВЭБ-NA-G»).

Результаты и обсуждение

При параллельном исследовании 47 сывороток крови практически здоровых взрослых, проживающих в Гвинейской Республике, с отечественной тест-системой IgM-корь производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия) и импортной Euroimmun (Германия) были получены разные результаты (табл.). При использовании отечественной тест-системы все сыворотки оказались отрицательными в отношении IgM-корь антител. При исследовании этих же сывороток с использованием импортной тест-системы IgM-корь антитела были выявлены в четырех образцах. По данным анамнеза было установлено, что эти лица в последние 6 месяцев не болели какими-либо заболеваниями, сопровождающимися сыпью. Были проведены дополнительные исследования этих сывороток в ИФА с тест-системами Euroimmun (Германия) на наличие IgG-корь антител и авидность IgG-корь антител. В данных сыворотках выявлены высокие титры IgG антител (более 2000 IU/L) с высоким уровнем авидности (более 83,5%), что не подтверждало наличия у этих лиц острой инфекции.

В трех из четырех образцов выявлены также IgM-антитела к цитомегаловирусу и вирусу Эпштейна–Барр. Вероятно, выявление IgM-антител к вирусу кори в этих образцах при исследовании в тест-системе «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)» следует расценивать как ложноположительные результаты, обусловленные неспецифическими факторами, поскольку в инструкции к этой тест-системе указана допустимая частота (до 29%) ложноположительных результатов при наличии в сыворотках крови IgM-антител к вирусу Эпштейна–Барр. Следует отметить, что при исследовании 47 сывороток крови от практически здоровых взрослых из Гвинейской Республики IgM-антитела к ВЭБ были обнаружены у 15 человек (32%), что свидетельствует о широком инфицировании ВЭБ жителей Гвинейской Республики.

Исследования были продолжены с сыворотками крови больных с предварительными диагнозами «инфекционный мононуклеоз», «краснуха» и «цитомегаловирусная инфекция», полученных с территорий СЗФО, в том числе из Санкт-Петербурга. Отсутствие противокоревых и противокраснушных антител класса IgM было лабораторно подтверждено методом ИФА с использованием отечественных тест-систем «ВектоКорь IgM» (Вектор-Бест) и «ИФА-Краснуха IgM» (ЭКОлаб). Из 23 сывороток крови, полученных с территорий СЗФО с диагнозами «инфекционный мононуклеоз» и «краснуха» в 8 сыворотках были выявлены IgM-антитела к ВЭБ, которые в сочетании с EA IgG-антителами подтверждали острую пер-

Таблица. Результаты исследования сывороток крови на наличие IgM-корь антител в ИФА с тест-системами разного формата

Table. The results of the study of blood serum for the presence of IgM-measles antibodies in ELISA with test-systems of different formats

Число исследованных сывороток Number of blood serum	Место проживания обследованных лиц Place residence of the surveyed persons	Наличие IgM-антител к вирусу кори The presence of IgM-measles antibodies	
		Вектор-Бест, Россия, абс./% Vector-Best, Russia, abs./%	Euroimmun, Германия, абс./% Euroimmun, Germany, abs./%
47	Гвинейская Республика Republic of Guinea	0	4/8,5
23	СЗФО North-West federal district	0	1/4,3
38	Санкт-Петербург St. Petersburg	0	1/2,6
108		0	6/5,5

вичную инфекцию ВЭБ, а в сочетании с EA IgG- и NA IgG-антителами свидетельствовали о реактивации инфекции. В пяти случаях это были больные с первичным диагнозом «инфекционный мононуклеоз» и в трех случаях — с диагнозом «краснуха». Из 23 отрицательных в отношении кори сывороток, подтвержденных в ИФА с тест-системой «ВектоКорь IgM», одна сыворотка оказалась IgM-корь положительной при использовании тест-системы Euroimmun (Германия) (показатель оптической плотности составил 1,287 о.е., значение R было равно 3,72), в этом образце также были обнаружены IgM-антитела к ВЭБ.

В исследование также были включены 18 сывороток крови от детей, госпитализированных в один из стационаров Санкт-Петербурга с лабораторно подтвержденной инфекцией, вызванной ВЭБ, и 20 сывороток детей с лабораторно подтвержденной цитомегаловирусной инфекцией. Все сыворотки, исследованные на наличие IgM-корь антител в ИФА с тест-системой «ВектоКорь IgM», оказались отрицательными. У одного пациента с лабораторно подтвержденной инфекцией, вызванной ВЭБ, в ИФА с тест-системой «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)» фирмы «Euroimmun» (Германия) были выявлены IgM-корь антитела (показатель оптической плотности составил 0,462 о.е., значение R было равно 1,32).

Дополнительно был проведен сравнительный анализ результатов определения противокраснушных антител класса IgM с помощью тест-систем двух форматов в сыворотках 18 пациентов с лабораторно подтвержденным диагнозом «цитомегаловирусная инфекция». Различий в результатах использования двух тест-систем не было получено. Ни в одном случае не были выявлены IgM-антитела к вирусу краснухи.

В целом при исследовании 108 сывороток крови от здоровых и больных лиц, проживающих на территории СЗФО РФ и в Гвинейской Республике, в ИФА с тест-системой «ВектоКорь IgM» антитела IgM-корь не были выявлены. Отсутствие острой инфекции также подтверждено наличием высокого уровня IgG-антител и высоким процентом авидности IgG-корь антител. При исследовании этих же сывороток в ИФА с тест-системой «Euroimmun» (Германия) выявлено 6 положительных сывороток (5,5%), в которых обнаружены также антитела к ВЭБ. В инструкции фирмы «Euroimmun» (Германия) представлены данные о возможной перекрестной реакции с антителами против ВЭБ. Вследствие этого, могут быть получены ложноположительные результаты при определении IgM-корь антител. Полученные нами положительные результаты можно рассматривать как неспецифическую реакцию.

Кроме того, выявлен разный процент ложноположительных реакций среди практически здоровых взрослых, постоянно проживающих в Гвинейской Республике ($8,5 \pm 4,0\%$), и у больных, постоянно проживающих в РФ ($3,2 \pm 2,2\%$).

При исследовании сывороток крови на наличие антител IgM-краснуха в тест-системах ИФА двух форматов положительных сывороток не было выявлено.

Таким образом, при определении противокоревых IgM-антител показано наличие перекрестной реактивности в отношении ВЭБ в тест-системе фирмы «Euroimmun» (Германия) и выявлена более высокая специфичность тест-системы фирмы «Вектор-Бест», Россия.

Вместе с тем, это предварительные данные, и для получения окончательных результатов следует увеличить объем выборки исследуемых сывороток, что и будет продолжено в рамках проекта с Гвинейской Республикой.

Список литературы/References

1. Мамаева Т.А., Наумова М.А., Железнова Н.В., Липская Г.Ю., Mulders S.M., Featherstone D.A. Оценка коммерческих тест-систем ИФА разного формата для определения уровня специфических IgM и IgG в сыворотках больных корью // Вопросы вирусологии. 2013. Т. 58, № 5. С. 43–48. [Mamaeva T.A., Naumova M.A., Zheleznova N.V., Lipskaya G.Y., Mulders M., Featherstone D.A. Estimation of the commercial elisa test-systems of different formats to detect specific IgM and IgG in the measles patients sera. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2013, vol. 58, no. 5, pp. 43–48. (In Russ.)]
2. Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербаклова С.А., Буаро М.Й., Тотолан А.А. Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения Гвинейской Республики в рамках глобальной программы элиминации кори. Сообщение 2 // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 79–84. [Popova A.Y., Bichurina M.A., Lavrentyeva I.N., Zheleznova N.V., Antipova A.Y., Shcherbakova S.A., Boiro M.Y., Totolian A.A. Measles virus immunity level study in particular population groups of the republic of guinea within the framework of global measles elimination program. Report 2. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 79–84. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-79-84 (In Russ.)]
3. Getahun M., Beyene B., Ademe A., Teshome B., Tefera M., Asha A., Afework A., Hailemariam Y., Assefa E., Gallagher K. Epidemiology of laboratory confirmed measles virus cases in Amhara Regional State of Ethiopia, 2004–2014. *BMC Infect. Dis.*, 2016, vol. 16 (133), 7 p. doi: 10.1186/s12879-016-1457-7
4. Parent du Chatelet I., Floret D., Antona D., Levy-Bruhl D. Measles resurgence in France in 2008, a preliminary report. *Euro Surveill.*, 2009, vol. 14, iss. 6: 19118. doi: 10.2807/ese.14.06.19118-en
5. Suk J.E., Jimenez A.P., Kourouma M., Derrough T., Balde M., Honomou P., Kolie N., Mamadi O., Tamba K., Lamah K., Loua A., Mollet T., Lamah M., Camara A., Prikazsky V. Post-Ebola measles outbreak in Lola, Guinea, January-June 2015. *Emerg. Infect. Dis.*, 2016, vol. 22, no. 6, pp. 1106–1108. doi: 10.3201/eid2206.151652
6. World Health Organization. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection. 2006, Geneva, Switzerland. URL: http://www.who.int/ihr/elibrary/manual_diagn_lab_mea_rub_en.pdf (18.05.2018)
7. World Health Organization. WHO vaccine-preventable diseases: monitoring system. 2016 global summary. URL: http://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/countries?countrycriteria%5Bcountry%5D%5B%5D=GIN&commit=OK (18.05.2018)

Авторы:

Бичурина М.А., д.м.н., зав. лабораторией этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Железнова Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Лаврентьева И.Н., д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Антипова А.Ю., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Куляшова Л.Б., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории идентификации патогенов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Тотолан Арег А., академик РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Bichurina M.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Zheleznova N.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Viral Hepatitis, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Lavrentieva I.N., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of experimental virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Antipova A.Yu., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of experimental virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Kulyashova L.B., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Identification of Pathogens, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Totolian Areg A., RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.