

позволяет существенно сократить сроки лечения пациентов, а также количество ранних и поздних послеоперационных осложнений.

Ключевые слова: острый парапроктит, диагностика, хирургическое лечение.

Резюме

Бабич В.О. *Діагностика та лікування гострого парапроктита*

В роботі наведено аналіз несприятливих результатів лікування 110 хворих на гострий парапроктит, у яких використовувались традиційні методи діагностики і лікування. Наведено власний досвід лікування 100 пацієнтів на гострий парапроктит, у яких використаний запропонований лікувально-діагностичний підхід. Порівняльна оцінка результатів лікування хворих обох груп показала, що впровадження індивідуалізованого лікувально-діагностичного підхода дозволяє істотно скоротити терміни лікування пацієнтів, а також знизити кількість післяопераційних ускладнень.

Ключові слова: гострий парапроктит, диагностика, хірургічне лікування.

Summary

Babych V.O. *Diagnostics and treatment of acute paraproctitis.*

The results of treatment of 110 patients with acute paraproctitis diagnosed and treated by standard methods with unfavorable outcome is presented. Own experience of treatment of 100 patients in which individualized diagnostic and treatment tactics is presented as well. The comparison of both groups showed the significant shortening of duration of treatment and postoperative complications.

Key words: acute paraproctitis, diagnostics, surgical treatment.

Рецензент: д.мед.н., проф. В.І.Бондарев

УДК 578.76+571.27:616-093

СУЧАСНА ДІАГНОСТИКА ЦИТОМЕГАЛОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА ПІДХОДИ ДО СТВОРЕННЯ ІМУНОФЕРМЕНТНИХ НАБОРІВ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ЇЇ СЕРОЛОГІЧНИХ МАРКЕРІВ

О.Ю. Галкін, В.П. Шпак, О.М. Дуган

Національний технічний університет України
"Київський політехнічний інститут" (Київ)

Вступ

У сучасній клінічній медицині цитомегаловірусна інфекція (ЦМВІ), набуває все більшої актуальності. Крім значення цитомегаловіруса (ЦМВ) як етіологічного агенту внутрішньоутробної та перинатальної патології, значною є його роль в розвитку важких пневмоній у пацієнтів, які перенесли пересадку органів, опікову травму, у онкогематологічних хворих. Як нозологічна форма ЦМВ-інфекція відрізняється широким поліморфізмом. Клінічний діагноз ЦМВ-інфекції вимагає обов'язкового лабораторного підтвердження. Разом з тим, використовувані в даний час серологічні, вірусологічні, молекулярно-біологічні методи виявлення активної ЦМВ-інфекції мають різну діагностичну цінність при лабораторному підтвердженні маніфестної форми захворювання [1-3]. У зв'язку з викладеним вище, питання лабораторної діагностики ЦМВ-інфекції залишаються актуальними для практичної охорони здоров'я і на сьогоднішній день. Не менш важливими та актуальними є питання створення сучасних високоінформативних діагностичних наборів, що дозволяють виявляти різні серологічні маркери ЦМВ-інфекції.

Метою нашої роботи був аналіз літературних даних щодо сучасних підходів до лабораторної діагностики ЦМВ-інфекції та біотехнологічні основи створення імуноферментних наборів для її діагностики.

Цитомегаловірусна інфекція: сучасні підходи до лабораторної діагностики

ЦМВІ представляє собою захворювання, яке характеризується широким клінічним поліморфізмом. Оскільки клінічні про-

яви цитомегалії, як правило, тяжкі, але не специфічні, а в більшості випадків взагалі збудник довгий час знаходиться в організмі людини в латентному стані, то вирішального значення набуває своєчасна лабораторна діагностика.

Останніми роками чітко простежується тенденція до широкого застосування методів експресної діагностики вірусних антигенів та нуклеїнової кислоти ЦМВ у клінічних зразках. Це пов'язано з необхідністю діагностувати захворювання якомога раніше, протягом кількох годин після госпіталізації хворого. Однак традиційні методи діагностики, які включають в себе ізоляцію інфекційного агенту, вивчення його морфологічних, фізико-хімічних та біологічних характеристик з наступною ідентифікацією за допомогою реакцій імуноаналізу, продовжують залишатися не менш важливими в постановці достовірного діагнозу, незважаючи на їх трудомісткість та тривалість.

Сучасна діагностика цитомегаловірусної інфекції базується на використанні морфологічного (цитологічного), вірусологічного, сероімунологічного (реакції імунофлуоресценції, імуноферментного аналізу, імуноблотингу тощо) методів, а також визначення нуклеїнової кислоти та вірусних білків.

Широко розповсюдженим та доступним є цитологічний метод діагностики ЦМВІ, який базується на виявленні в досліджуваному матеріалі, зафарбованому азур-еозином або гематоксилін-еозином, специфічно змінених клітин. Вони представляють собою трансформовані по гігантському типу клітини з великим ядром та вузькою каймою цитоплазми (так звані "совиним оком").

Дослідженню даним методом підлягають сеча, слина, спинномозкова рідина, вагінальний та цервікальний секрет. Наявність цитомегалічних клітин в біоптаті враженого органу чи в патологоанатомічному матеріалі є кінцевим доказом ЦМВІ. Але діагностична цінність даного методу обмежена низькою чутливістю прижиттєвої діагностики (лише у 30% дітей з клінічними проявами вродженої ЦМВІ вдається виявити ці клітини) [4].

"Золотим стандартом" для підтвердження прижиттєвого діагнозу ЦМВ інфекції є вірусологічний метод, оскільки він є основним і найбільш достовірним у період гострих проявів хвороби. Вірус можна виділяти з слини, сечі, цервікального секрету та

іншого матеріалу хворого на культурі чутливих клітин: фібробластів та диплоїдних клітин легенів ембріона людини. При генералізованій формі цитомегаловірусної інфекції вірус зв'язується з лейкоцитами крові, тому для його виділення використовують лейкоцитарні культури [5]. В даних культурах відбувається репродукція ЦМВ з розвитком цитопатогенного ефекту, який виникає через 24 години, іноді до 1 місяця, після зараження. Перепоною до рутинного застосування даного методу є його трудомісткість та необхідність дорогих поживних середовищ. Він може бути застосованим лише в лабораторіях, які практикують дослідження з чутливими культурами клітин [6]. Крім цього, має велике значення правильно організований забір матеріалу для дослідження, його доставка та зберігання, оскільки ряд несприятливих факторів (тривале зберігання зразків перед зараженням чутливих клітин, заморожування і наступне їх танення тощо) може звести нанівець дослідження внаслідок більш швидкої деструкції клітинного шару за рахунок контамінації інфекційного матеріалу іншими мікроорганізмами (вірусом звичайного герпесу, грибами тощо) [7].

Для безпосередньої візуалізації ЦМВ протягом багатьох років використовується електронна мікроскопія (ЕМ), яка базується на негативному контрастуванні вірусних часток електронно щільними солями фосфорно-вольфрамової кислоти. Електронна мікроскопія дозволяє бачити зовнішній вигляд та розміри вірусу, хоча розмежування близьких родин з однаковою морфологією вірусів складне (наприклад, вірус звичайного герпесу, оперізуючого герпесу). Важливе значення для цього методу виявлення збудника ЦМВІ має достатня концентрація вірусу. На сьогодні розроблено цілий ряд заходів з метою поліпшення ЕМ-детекції. Але електронна мікроскопія і в сучасних умовах залишається надто дорогим та трудомістким методом, який доступний для використання лише в спеціалізованих лабораторіях [8].

На сьогодні все ширшого застосування в діагностиці ЦМВІ знаходить реакція імунофлуоресценції (РІФ), яка використовується для виявлення антигенів ЦМВ за допомогою кон'югату специфічних анти-ЦМВ імуноглобулінів з флуоресцентним барвником. Різновидом РІФ є реакція непрямой імунофлуоресценції (РНІФ), де використовуються мічені флуоресцентною міткою антитіла, специфічні

до імуноглобулінів людини. При цьому для ідентифікації ЦМВ можуть бути використані сироватки реконвалесцентів, що містять специфічні до цитомегаловірусу антитіла [6].

Результати досліджень методами РІФ та РНІФ оцінюють за чотирьоххрестовою системою з урахуванням таких показників як яскравість і колір специфічної флуоресценції, локалізація та структура світіння, а також кількість клітин в препараті, уражених вірусом цитомегалії, що є свідомством інтенсивності виділення вірусу [6]. Так як ЦМВІ часто має тривалий персистуючий характер, то хворі можуть виділяти вірус з сечею, спермою та слиною довгі роки. В зв'язку з цим виявлення вірусу в даних матеріалах не може бути показником активності інфекційного процесу [9]. При застосуванні даного методу важливе значення має правильне збирання та обробка клінічних зразків, які містять достатню кількість епітеліальних клітин, а також досвід лаборантів для розмежування специфічної та неспецифічної імунофлуоресценції [10].

В останній час все ширшого застосування в діагностиці цитомегаловірусної інфекції знаходить метод детекції вірусу шляхом молекулярної гібридизації та ампліфікації провірусної ДНК - полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) [11-13]. Основними перевагами цього методу є висока чутливість, специфічність та швидкість дослідження [14]. Але важливо відзначити два основні недоліки ПЛР: низька прогностична цінність, яка пов'язана з тим, що ПЛР визначає ДНК вірусу в латентному стані, а також те, що тільки у 40-60% носіїв ЦМВ може розвинути захворювання. У таких випадках тільки негативний результат ПЛР має абсолютну діагностичну цінність [15].

В разі неможливості застосування методів виділення вірусу або визначення антигенів, доцільним є використання серодіагностики. Виявлення специфічних антитіл є досить інформативним напрямком для диференціації первинної інфекції, реактивації та латентного перебігу ЦМВІ. Специфічні антитіла відповідають за лізис позаклітинного вірусу, а також інгібують його внутрішньоклітинну реплікацію та поширення від клітини до клітини. Сироватки пацієнтів після первинного інфікування містять антитіла до внутрішніх білків вірусу (pp28, pp65, pp150), тоді як сироват-

ки хворих, які одужують, містять в основному антитіла, що реагують з глікопротеїнами оболонки вірусу [9].

Із серологічних методів діагностики цитомегаловірусної інфекції використовують реакцію зв'язування комплексу (РЗК), реакцію нейтралізації (РН), реакцію латексаглютинації (РЛА), реакцію пасивної гемаглютинації (РПГА), реакцію імунофлуоресценції (РІФ) та інше [6]. Але в останні роки найбільше розповсюдження отримав метод імуноферментного аналізу (ІФА), який дозволяє виявити вірусспецифічні імуноглобуліни з високою та низькою авідністю, що утворюються на початку імунної відповіді при розмноженні вірусу в організмі [16]. Як антиген у комерційних тест-системах використовують вірусні частинки, лізат заражених клітин, рекомбінантні білки або синтетичні пептиди [17]. Принцип тестування полягає в тому, що антитіла, які присутні в дослідному матеріалі, утворюють імунні комплекси з антигенами ЦМВ, сорбованими в лунках полістиролових планшетів. Утворені комплекси виявляються антивидовими антитілами, міченими пероксидазою хрому. ІФА для виявлення антитіл до ЦМВ стає більш інформативним, коли проводять кількісне визначення антитіл (титрування досліджуваних сироваток) та аналізують парні сироватки в динаміці захворювання [14].

Виявлення специфічних IgM до цитомегаловірусу у пацієнтів з нормальним імунітетом говорить про перебіг активної інфекції, що забезпечує більш ранню діагностику. Сероконверсія з появою високих титрів анти-ЦМВ-IgM є надійною ознакою первинної інфекції, оскільки при рецидивуючій ЦМВ-інфекції титри IgM рідко бувають високими. Однак не всі індивідууми здатні виробляти ці антитіла. У людей з ослабленим імунітетом IgM, специфічні до ЦМВ не утворюються навіть при клінічно вираженій інфекції [6].

У імунокомпетентних осіб рівень IgM при наявності свіжої інфекції досягає максимуму до 2 місяців; з 10 місяця він знижується, та IgM змінюються на IgG, рівень яких наростає. Відсутність IgG при наявності IgM і вірусу в крові є свідомством гострого первинного інфікування [18].

Визначення IgG в динаміці методом імуноферментного аналізу дозволяє при 4-кратному наростанні титру антитіл з впевненістю говорити про гострий інфекційний процес. Також важ-

ливе значення має відсутність IgG у вагітних та реципієнтів органів перед трансплантацією, оскільки при первинному зараженні вони не будуть захищені антитілами [14].

Імуноферментний аналіз у діагностиці ЦМВ-інфекції

Як вже зазначалось, одним з найбільш поширених методів діагностики цитомегаловірусної інфекції є імуноферментний метод виявлення антитіл, специфічних до ЦМВ [19].

Для діагностики ЦМВ-інфекції використовують наступні модифікації ІФА: твердофазний непрямий імуноферментний аналіз (ТІФА) і "IgM-захват". Перша модифікація використовується при визначенні антитіл IgM, IgG та визначення авідності IgG, що дає змогу визначити час інфікування вірусом, друга для визначення специфічних IgM. Кон'югат, що застосовується у таких тест-системах, може бути отриманий на основі поліклональних антивидових антитіл (наприклад, кролячі антитіла проти імуноглобулінів людини) або на основі полі- або моноклональних антитіл, проти людських імуноглобулінів певного класу (IgM, IgG, IgA). Для визначення антитіл IgM специфічних до цитомегаловірусу використовують модифікацію ІФА - так званий "IgM-захват" (antibody capture ELISA).

Таким чином, для діагностування ЦМВ інфекції, використовуючи імуноферментний аналіз мають місце дві модифікації ІФА. Одна з них - непрямий твердо фазний імуноферментний аналіз - використовується для виявлення антитіл IgM, IgG та визначення авідності IgG, а інша модифікація - "IgM-захват" - для визначення IgM. Модифікація "IgM-захват" забезпечує більшу специфічність аналізу, проте не завжди вдається забезпечити бажаний рівень чутливості.

Біотехнологічні основи створення імуноферментних наборів для діагностики ЦМВ-інфекції

Основний принцип самого імуноферментного аналізу, зокрема модифікацій непрямого ТІФА та "IgM-захвату" було розглянуто вище, тому варто зупинитись на особливостях розробки ІФА тест-систем в цілому.

До основних біологічних компонентів ІФА-системи належать: імуносорбент - адсорбовані на твердій фазі антигени або

антитіла; імуноферментний кон'югат - ковалентно зв'язані з ферментом специфічні антитіла або антигени; додаткові буфери та розчини для підготовки досліджуваного зразку, кон'югату, контролів або калібраторів тощо.

Принципова схема розробки імуноферментної тест-системи має наступний вигляд:

- отримання основних біокомпонентів (нативних і рекомбінантних антигенів, моноклональних антитіл);
- розробка умов сорбції і стабілізації білків на твердій фазі;
- кон'югування і стабілізація імуноферментних кон'югатів;
- розробка складу розчинів в тест-системі;
- отримання і стабілізація контролів або калібраторів;
- конструювання тест-системи;
- оцінка діагностичних характеристик тест-системи;
- вивчення стабільності при зберіганні.

Одним з головних завдань при розробці ІФА є отримання антигену, що сорбується на твердо фазний носій. Згідно даних [20] для підвищення чутливості та специфічності аналізу використовуються не весь білок (антиген), а лише певна його частина - імунодомінантна область (епітоп), тобто та амінокислотна послідовність, яка безпосередньо взаємодіє з антитілами. Для ідентифікації антигенних детермінант (епітопів) та їх амінокислотних послідовностей широко використовують синтетичні пептиди з амінокислотними послідовностями, які перекриваються, що імітують фрагменти цих білків. Імуногенність кожного пептиду перевіряють постановкою непрямого ТІФА, використовуючи позитивні та негативні сироватки для досліджуваного антигену. В деяких випадках [21] можливе використання декількох синтетичних пептидів, що підвищує чутливість аналізу.

Наступним етапом розробки аналізу є отримання біологічних компонентів - головних складових тест-систем.

Рекомбінантні білки отримують використовуючи біологічні системи, найчастіше це - прокаріотичні, в деяких випадках використовують еукаріотичні, наприклад дріжджі. При застосуванні даної технології, особлива увага приділяється підбору ефективної системи очистки рекомбінантного білку, яка дозволяє не лише позбутися небажаних при розробці різноманіт-

них домішок, але й при правильному підборі зменшити кількість стадій очищення, знизити відсоток втрати цільового продукту до мінімуму. Найбільш економічно виправданим способом на даний час вважається афінна та імуноафінна хроматографія [22].

Моноклональні антитіла використовуються в складі імуносорбенту та кон'югату. Отримання МКАТ здійснюється з використанням гібридомної технології. Великою перевагою використання гібридом є те, що в процесі клонування дослідник має можливість відбирати гібридоми, що продукують МКАТ з необхідними для нього властивостями, зокрема такими, як специфічність взаємодії, константа афінності та інші фізико-хімічні властивості, що впливатимуть на якість розробленого імунореагенту.

Основною перевагою МКАТ є можливість їх отримання в необмеженій кількості з ідентичними фізико-хімічними та імунохімічними характеристиками. Це дозволяє створювати на їх основі стандартизовані діагностичні реагенти. Використання поліклональних сироваток, як альтернативного джерела антитіл, ускладнює даний процес і в деяких випадках робить його неможливим [23-25].

Основними характеристиками МКАТ при їх відборі для розробки біологічних компонентів ІФА тест-системи є однакова специфічність, афінність та мінімальна перехресна реактивність, а також їх чистота [26].

Розробка умов сорбції і стабілізації білків на твердій фазі. При розробці умов сорбції білку береться до уваги властивості антигену, склад буферу, температура та час проведення сорбції. Типовими проблемами можуть стати неправильна орієнтація іммобілізованих молекул, їх часткова та повна денатурація, низька іммобілізаційна ефективність процесу та зв'язування з твердою фазою контамінуючих білків. Для подолання проблем правильної орієнтації застосовують глутатіон та хелати металів; для запобігання денатурації білку твердофазний носій попередньо обробляють стабілізуючими речовинами, наприклад, глутаровим альдегідом [27].

Отримання імуносорбенту є однією з важливих процедур при розробці твердофазного ІФА, так як від збереження стабільності і активності іммобілізованого антигену залежить кількісна характеристика аналізу при практичному застосуванні [28-29].

Найчастіше для твердофазного ІФА приготування імуносорбенту здійснюється або ковалентним зв'язуванням, або адсорбцією речовини на поверхню твердофазного носія. До твердофазних носіїв пред'являють наступні вимоги: нерозчинність в умовах проведення аналізу; достатня для аналітичних цілей ємність; здатність забезпечувати міцне необоротне зв'язування білка з носієм і стабільність при зберіганні; мінімальна здатність до неспецифічного зв'язування компонентів реакційної суміші. Основним фактором, що дає можливість проведення аналізу і коректну інтерпретацію його результатів є однорідність сорбційних властивостей носія [28-30].

Найбільш поширеними твердофазними носіями є 96-лункові планшети із оптично прозорого полістиролу, полівінілхлориду та інших полімерних полімерів. Розробку умов сорбції проводять таким чином, що оптичні властивості в кінцевому результаті не змінювалися, оскільки це впливатиме на результат аналізу [30].

Антигени можуть бути зв'язані з планшетом як ковалентно, так і за допомогою пасивної адсорбції. Вибір методу зв'язування залежить від молекулярної маси та будови антигену. Основними параметрами адсорбційного методу є значення рН розчину для сорбції, час витримування, що залежить від гідрофобності білку, заряду і молекулярної маси молекули, а також температура. Основними проблемами при такому методі є відсутність зв'язування з твердою фазою через водонерозчинність білку, стеричну недоступність імунодомінантних областей [28-30].

Іммобілізація антигенів шляхом ковалентного зв'язування проводять використовуючи підходи, що розроблені для отримання нерозчинних похідних антитіл і ферментів. Вибір зшиваючого агенту та метод зв'язування необхідно проводити з урахуванням доступних функціональних груп, модифікація яких не повинна знижувати здатності антигену ефективно формувати комплекс з антитілом.

Методи одержання імуноферментних кон'югатів. У літературі описано чимало методів кон'югації антитіл з ферментами, які дозволяють одержувати кон'югати з високою антигензв'язувальною та ферментативною активністю.

Методи кон'югації можна розділити на дві групи. До першої групи належать способи одержання кон'югатів за допомо-

гою ковалентного зв'язування антитіл та ферментів. Інший підхід базується на використанні нековалентних високоафінних міжбілкових зв'язків, у тому числі зв'язків антиген - антитіло.

Літературні дані [28, 29, 31, 32] свідчать про більшу розповсюдженість ковалентних методів, які, у свою чергу, прийнято класифікувати за типом зшивального реагенту на зшивки з нульовою довжиною (від англ. zero-length), гомо- та гетеробіфункціональні. Zero-length зшивки опосередковують кон'югацію двох молекул за рахунок утворення зв'язку, який не містить додаткових атомів. Такі зшивальні реагенти є своєрідними посередниками, які не входять до складу кінцевого продукту і залишаються вільними після кон'югації. Подібні реакції протікають за участю карбодимідів та N,N'-карбонілдімідозолу. Даний варіант кон'югації реалізується також при взаємодії молекул із вільними альдегідними та аміногрупами із утворенням основ Шиффа та подальшому їх відновленні [27].

Гомобіфункціональні агенти містять дві однакові реактивні групи й так званій спейсер - ділянку молекули, яка не приймає безпосередньої участі у реакції кон'югації. До числа таких реагентів відноситься гомобіфункціональні ефіри N-гідроксисукциніміду (NHS-ефіри), імідоефіри, сульфгідрил-реактивні зшивки, альдегіди тощо [29]. Гетеробіфункціональні агенти містять дві різні реактивні групи, що просторово розділені спейсером. У літературі описані зшивки із різними комбінаціями активних груп: аміно-, карбоніл-, сульфгідрил-, карбоксилат-, аргінінреактивні, а також фотореактивні [27].

Для одержання імуноферментних кон'югатів найчастіше використовують пероксидазу хрому (ПХ), а крім того - лужну фосфатазу, β -галоксидазу та глюкооксидазу [27-30]. Оскільки ПХ є глікопротеїном, то найчастіше її активують періодатом та зшивають з аміногрупами імуноглобулінів шляхом відновлювального амінування. Фермент β -галоксидаза у достатку містить вільні сульфгідрильні групи, які використовують для кон'югації з сульфгідрил-реактивним кінцем гетеробіфункціональних зшивальних агентів, наприклад, сукцинімідил-4-(N-малеїмідометил)-циклогексан-1-карбоксилату (SMCC). Будь-який фермент може

бути кон'югований через свої аміногрупи з використанням глутарового альдегіду чи різних гетеробіфункціональних агентів.

Висновки

1. Таким чином, на теперішній час розроблено багато високочутливих і специфічних методів діагностики цитомегаловірусної інфекції, які дозволяють виявляти захворювання в ранні строки і проводити цілеспрямовану терапію. Діагностика ЦМВ-інфекції потребує використання в практиці всього комплексу методів, які присутні в арсеналі клінічних лабораторій. Важливе місце серед цих методів посідає серодіагностика, одним з найбільш розповсюдженим напрямком якої є імуноферментний аналіз для виявлення антитіл до цитомегаловірусу.

2. Принципова схема біотехнологічна схема розробки імуноферментної тест-системи для діагностики ЦМВІ включає отримання нативних чи рекомбінантних антигенів, моноклональних антитіл, розробку умов сорбції і стабілізації білків на твердій фазі, кон'югування і стабілізацію імуноферментних кон'югатів, розробку складу буферних розчинів, отримання контрольних зразків, оцінку діагностичних характеристик тест-системи та вивчення її стабільності при зберіганні.

Література

1. Spector S.A. Detection and quantification of human cytomegalovirus (CMV) as a marker for development of CMV disease and survival in patients with AIDS / S.A.Spector // *Antiviral therapy*. - 1997. - V. 2. - P. 200-205.
2. Ведяков А.М. Полимеразная цепная реакция в диагностике цитомегаловирусной инфекции у больных с аллотрансплантатами органов / А.М.Ведяков, М.С.Долгих // *Терапевтический архив*. - 1998. - Т. 70, №4. - С. 45-48.
3. Полимеразная цепная реакция в диагностике цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов / О.Ю.Шипулина, В.И.Шахгильдян, Г.А.Шипулин [и др.] // *Вопросы вирусологии*. - 1998. - № 2. - С. 91-95.
4. Ovaguimian O. The virus diagnostic of cytomegalovirus infection / O.Ovaguimian, L.C.Nicolas // *Rev. fr. lab.* - 1994. - V.23, №262. - P.51-53.

5. *Можливості лабораторної діагностики цитомегаловірусної інфекції* / Л.А.Ходак, М.А.Андрейчин, Л.О.Панченко [та ін.] // *Інфекційні хвороби*. - 1998. - №4. - С.47-51.
6. *Смілянська М.В. Лабораторна діагностика цитомегаловірусної інфекції* / М.В.Смілянська // *Інфекційні хвороби*. - 1998. - №2. - С. 50-52.
7. Chou S. *Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection* / S.Chou // *Rev.Infect.Dis.*-1990. - № 12. - P.727-736.
8. Landry M.H. *Rapid and accurate viral diagnosis* / M.H.Landry, D.R.Maryo, G.D.Hsiung // *Pharmac. Ther.* - 1989. - V.40, № 2. - P.287-328.
9. *Каражас Н.В. Цитомегаловірусная инфекция - современная диагностика* / Н.В.Каражас // *Клиническая лабораторная диагностика*. - 1998. - № 2. - С.16-17.
10. *Егорова О.Н. Значение выявления при ревматических заболеваниях антител к вирусам семейства Herpesviridae* / О.Н.Егорова, Р.М.Балабанова, Г.Н.Чувывров // *Терапевт. архив*. - 1998. - № 5. - С. 41-45.
11. *Rapid diagnosis of cytomegalovirus interstitial pneumonitis by the polimerase chain reaction method - comparison of four diagnostic procedures* / T.Yoshinobu, H.Tomoko, O.Atsuco // *J. Jap. Infec. Diseases*. - 1993. -V.67, № 4. - P.295-298.
12. *Detection of human cytomegalovirus DNA: how, when and where ?* / G.Gerna, F.Baldanti, D.Zella [et al.] // *Scan. J. Inf. Dis.* - 1995. - S; 99. - P. 11-15.
13. *Cardenoso L. Buendia Utility of PCR for detection of CMV in gastrointestinal tract biopsies* / L.Cardenoso, P.Vallejo // *Clin. Microb. and Inf.* - 1997. - V. 3. - P. 249.
14. *Каражас Н.В. Лабораторная диагностика цитомегаловірусної інфекції* / Н.В.Каражас, Т.Н.Рыбалкина, Л.Ф.Евсеева // *Клиническая лабораторная диагностика*. - 2000. - № 8. - С.15-16.
15. *Попов С.Д. Патологическая анатомия и молекулярно-биологическая диагностика цитомегаловірусної інфекції : автореф. дисс. ... канд. мед. наук* / С.Д.Попов. - С.-Пб., 1993. - 16 с.

16. *Селиванов Я.М. Разработка технологии приготовления иммуноферментных тест-систем для экспрессной диагностики цитомегаловірусної інфекції человека* / Я.М.Селиванов, Е.П.Гренкова // *Методы исследования в молекулярной, общей и медицинской вирусологии*. - РАМН: Ин-т вирусологии. - М., 1992. - С.261.
17. *Діагностика, клініка і лікування цитомегаловірусної інфекції у дітей* / В.А.Таболін, Н.Н. Володин, В.П. Гераськіна [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. - 1994. - № 3. - С.16-19.
18. *Серологическая диагностика цитомегаловірусної інфекції* / Т.В.Савицкая, А.Г.Коломиец, Н.Д.Коломиец [и др.] // *Здравоохранение (Республика Беларусь)*. - 1998. - № 6. - С.60-63.
19. *Изучение сорбционной способности полистироловых планшетов, используемых в ИФА* / Л.И.Ванеева, И.Ю.Гридчина, О.А.Пантелеев [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. - 1986. - № 9. - С. 44 - 48.
20. *Landini M.P. Recombinant mono- and molyantigens to detect cytomegalovirus-specific immunoglobulin M in human sera by enzyme immunoassay* / M.P.Landini, T.Lazzarotto, G.T.Maine // *J. Clinical microbiology*. - 1995. - Vol. 33, № 10. - P. 2535-2542.
21. *Landinini M.P. Human Cytomegalovirus structural proteins: immune reaction against pp150 synthetic peptides* / M.P.Landinini, A.Ripalti, K.Sra // *J. Clinical microbiology*. - 1991. - Vol. 29, № 9. - P. 1868-1872.
22. *Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение* / Б.Глик, Дж.Пастернак ; пер. с англ. - М.: Мир, 2002. - 589 с.
23. *Принципи, особливості та застосування гібридомної технології* / І.В.Ніколаєнко, Л.М.Шинкаренко, О.Ю.Галкін [и др.] // *Імунологія та алергологія*. - 2003. - № 4. - С. 7 - 17.
24. *Галкін О.Ю. Моноклональні антитіла до імуноглобулінів людини: особливості одержання та застосування*

/ О.Ю.Галкін, І.В.Ніколаєнко, М.Я.Співак // Імунологія та алергологія. - 2005. - № 1. - С. 3 - 9.

25. Одержання нових моноклональних антитіл до імуноглобулінів людини класу G, придатних для використання у діагностиці інфекційних захворювань / О.Ю.Галкін, І.В.Ніколаєнко, Г.Є. Раєвська [и др.] // Мікробіологічний журнал. - 2005. - Т. 67, № 6. - С. 40 - 48.

26. Нго Г.Г. Иммуноферментный анализ / Г.Г.Нго, Г.М.Ленкофф. - М.: Мир, 1988. - 446 с.

27. Hermanson G.T. Bioconjugate techniques / G.T.Hermanson. - San Diego: Academic Press, 2000. - 760 p.

28. Теория и практика иммуноферментного анализа / А.М. Егоров, А.П. Осипов, Б.Б. Дзантисев, Е.М. Гаврилова. - М.: Высш. шк., 1991. - 288 с.

29. Johnstone A. Immunochemistry 2: A practical approach / A.Johnstone. - Oxford: IRL Press, 1997. - 270 p.

30. Jonstone A. Immunochemistry in practice / A.Jonstone, R.Thorpe. - Oxford: Blackwell, 1996. - 364 p.

31. Harlow E. Antibodies. A laboratory manual / E.Harlow, D.Lane. - N.-Y.: Cold Spring Harbor, 1988. - 726 p.

32. Hudson L. Practical Immunology / L.Hudson, F.Hay. - Oxford: Blackwell, 1976. - 344 p.

Резюме

Галкін О.Ю., Шпак В.П., Дуган О.М. Сучасна діагностика цитомегаловірусної інфекції та підходи до створення імуноферментних наборів для виявлення її серологічних маркерів.

У роботі наведено огляд та порівняльну характеристику сучасних методів лабораторної діагностики цитомегаловірусної інфекції. Визначено переваги та недоліки різних методів, їх інформативність. Проаналізовані підходи до створення імуноферментних наборів для виявлення серологічних маркерів цитомегаловірусної інфекції - IgG та IgM, специфічних до антигенів цитомегаловірусу. Встановлено особливості біотехнології розробки та виробництва імуноферментних діагностичних тест-систем.

Ключові слова: цитомегаловірус, інфекція, діагностика, імуноферментний аналіз, біотехнологія.

Резюме

Галкін А.Ю., Шпак В.П., Дуган А.М. Современная диагностика цитомегаловирусной инфекции и подходы к созданию иммуноферментных наборов для выявления ее серологических маркеров.

В работе приведен обзор и сравнительная характеристика современных методов лабораторной диагностики цитомегаловирусной инфекции. Определены преимущества и недостатки различных методов, их информативность. Проанализированы подходы к созданию иммуноферментных наборов для выявления серологических маркеров цитомегаловирусной инфекции - IgG и IgM, специфичных к антигенам цитомегаловируса. Установлены особенности биотехнологии разработки и производства иммуноферментных диагностических тест-систем.

Ключевые слова: цитомегаловирус, инфекция, диагностика, иммуноферментный анализ, биотехнология.

Summary

Galkin O.Yu., Shpak V.P., Dugan O.M. Modern diagnosis of cytomegalovirus infection and approaches to creating of ELISA kits for detection of its serological markers.

Overview and comparative description of modern methods of laboratory diagnosis of cytomegalovirus infection has been represented in article. Advantages and disadvantages of different methods, their informative has been determined. The approaches to the creation of ELISA kits for detection of serological markers of cytomegalovirus infection - IgG and IgM, specific for cytomegalovirus antigens has been analyzed. The peculiarities of biotechnology development and manufacture of ELISA diagnostic test kits has been determined.

Key words: cytomegalovirus infection, diagnosis, immunoenzyme analysis, biotechnology.

Рецензент: д.мед.н., проф.І.В.Лоскутова
д.мед.н., доц.А.І.Курченко