

так и нерешенные вопросы диагностической чувствительности такого диагностического подхода. В частности отсутствуют данные о диагностических характеристиках тестов при выявлении различных штаммов RABV.

Целью нашей работы являлась разработка набора реагентов для выявления РНК вируса бешенства (RABV) методом ОТ-ПЦР в реальном времени, и оценка его аналитических характеристик.

Выбор таргетной области для амплификации и детекции RABV осуществляли в пределах последовательности N-гена.

Аналитическая чувствительность системы, оцененная на последовательных разведениях положительного контрольного образца (ПКО) составила 4×10^3 копий ПКО в мл. Аналитическая чувствительность системы, оцененная на последовательных разведениях штаммов RABV с известной концентрацией составила 0,1—1 LD₅₀/мл. Т.о. аналитическая чувствительность для различных штаммов отличается в 10 раз. Однако данное обстоятельство, по нашему мнению, не является существенным, так как концентрация вирусных частиц в мозговой ткани, используемой в качестве исследуемого материала, существенно выше пороговых значений для любого из исследованных штаммов.

При исследовании аналитической специфичности, оцененной с помощью РНК 23 штаммов RABV, РНК из высокотитражных культур 17 видов других вирусов, а также ДНК из мозговой ткани животных и человека, ложноположительных и ложноотрицательных результатов зафиксировано не было.

Оценка диагностической чувствительности и специфичности, проведенная на выборке первичного материала от инфицированных вирусом бешенства животных и человека (25 шт.) и от животных, у которых вирус бешенства не был обнаружен (22 шт.), показала 100% совпадение результатов исследования с данными, полученными при помощи МФА.

Таким образом, разработанная система в рамках данного исследования продемонстрировала высокие показатели аналитической и диагностической чувствительности, что делает перспективным ее использование в качестве скринингового теста при исследовании животных в рамках эпизоотологического надзора, а также с целью лабораторной диагностики бешенства у людей.

**И.А. Дубина, М.Ю. Первакова, С.В. Лапин,
В.Л. Эмануэль, Е.А. Суркова.**

**МЕТОД ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ СВОБОДНЫХ
ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ
ПРИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ ГАММАПАТИЯХ**

**I.A. Dubina, M.Yu. Pervakova, S.V. Lapin,
V.L. Emanuel, E.A. Surkova**

**ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY
FOR IMMUNOGLOBULIN FREE LIGHT CHAINS
MEASUREMENT IN CASE OF MONOCLONAL
GAMMOPATHIES**

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Состояния, характеризующиеся пролиферацией клона плазмочитов, синтезирующих моноклональный иммуноглобулин или парапротеин, называются моноклональными гаммапатиями. Одними из важных диагностических маркеров данной группы заболеваний являются концентрация свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов — каппа и лямбда, а также величина их соотношения. Кроме того данные показатели можно использовать для оценки эффективности лечения этих состояний. На сегодняшний день наиболее распространенным подходом измерения уровня СЛЦ является метод Freelight, основанный на нефелометрическом определении СЛЦ с помощью поликлональных антител.

Цель исследования — валидация иммуноферментной тест-системы для определения уровня СЛЦ в сыворотке крови.

Материал и методы. В эксперимент было включено 254 образца: 89 сывороток от здоровых доноров и 165 — от больных моноклональными гаммапатиями. Определение уровня СЛЦ проводили методом ИФА на отечественных реактивах фирмы «Полигност», основанного на моноклональных антителах. Полученные результаты сопоставлялись с результатами выявления парапротеинов методом иммунофиксации («HelenaBiosciences», Великобритания).

Результаты. В ходе исследования были определены аналитические характеристики набора, в том числе, предел обнаружения и диапазон линейности. По данным показателям отечественная тест-система была сопоставима с реактивами производителя Freelight.

Определение диапазонов нормальных значений проводили на сыворотках доноров. Полученные значения для каппа-СЛЦ (3,25—15,81 мкг/мл), лямбда-СЛЦ (3,23—28,05 мкг/мл) и для соотношения каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ (0,3—1,9) практически совпали с таковыми, рекомендованными производителем Freelight.

При обследовании группы больных с парапротеинемиями было выявлено достоверное ($p < 0,01$) повышение уровня СЛЦ по сравнению с контрольной группой. Также наблюдалось достоверное изменение ($p < 0,01$) величины соотношения каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ при моноклональных гаммапатиях.

Вывод. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что отечественный ИФА-набор можно использовать в лабораторной практике при диа-

гностике моноклональных гаммапатий, так как он обладает хорошими аналитическими и диагностическими характеристиками.

**О.Г. Жиленкова¹, О.В. Быстрова², Г.А. Осипов²,
Б.А. Шендеров¹**

**МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
МИКРОБНЫХ МЕТАБОЛИТОВ КАК ЭКСПРЕССНЫЙ
ПРИЕМ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНЫХ
МИКРОБИОЦЕНОЗОВ В МЕДИЦИНСКОЙ И
САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**

**O.G. Zhilenkova, B.A. Shenderov, O.V. Bistrova,
G.A. Osipov**

**MASS SPECTROMETRIC ANALYSIS OF MICROBIAL
METABOLITES AS A RAPID ESTIMATION
TECHNIQUE OF THE STATE OF THE NATURAL
MICROBIAL ASSOCIATIONS IN MEDICAL
AND HYGIENIC PRACTICE**

¹ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора;
²Институт аналитической токсикологии, Москва, Россия

Все живые организмы и объекты окружающей среды контаминированы огромным количеством разнообразных микроорганизмов, способных оказывать на человека как благоприятные, так и негативные эффекты. В течение многих десятилетий в медицинской и санитарно-гигиенической практике для выяснения структуры и количественного содержания микроорганизмов в различных биотопах человека, в пищевых продуктах и других объектах являлся микробиологический метод, основанный на посеве исследуемого материала на питательные среды, подсчете выросших колоний и последующей их идентификации с использованием различных микробиологических тест-систем. Трудоемкость, длительность и дороговизна подобных анализов не позволяла осуществлять экспрессную, качественную и объективную оценку состояния природных микробиоценозов, присутствующих на коже и слизистых человека и в объектах среды его обитания, в особенности при анализе многокомпонентных микробных сообществ. В последние годы в медицинскую и санитарно-гигиеническую практику все шире внедряются ОМИК-методы, в первую очередь, основанные на секвенировании ДНК микроорганизмов, а также изучении микробных метаболитов различными аналитическими методами. В последние годы все большую роль среди новейших методов оценки состояния сложных микробиоценозов начинает играть оригинальный метод хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС), дополненный специально созданными компьютерными программами, разработанный Российскими исследователями, в том числе одним из авторов. ГХ-МС анализ основан на

прямом извлечении различных липидных соединений из исследуемого материала, их разделении на газовом хроматографе с последующей идентификацией по времени выхода на селективном масс-спектрометре. Возможность детектирования одновременно порядка 70 микроорганизмов при проведении анализа одного образца по содержанию в нем 126 высших жирных кислот, гидрооксикислот, спиртов, альдегидов и стероидов, карбоновых и фенолкарбоновых кислот, специфических для различных групп микроорганизмов, также как и высокая скорость проведения анализа, явились основанием для нас апробировать этот метод для оценки микробиоценозов здоровых людей и лиц с теми или иными заболеваниями (себорейный дерматит, акне, экзема, алопеция, фурункулез, лямблиоз, СРК, пищевая аллергия, гельментозы, язвенный колит, метаболический синдром, заболевания нервной системы и др. состояния). Нами также впервые была предпринята попытка применить ГХ-МС для санитарно-гигиенической оценки молочных продуктов. Всего обследовано более 2500 человек, у которых в качестве объекта исследования использовались кровь, соскобы с кожи, себум, мазки из зева, моча, слюна, гинекологический материал, материал зубных бляшек.

Проведенные нами исследования показали, что состояние человека и объектов окружающей среды могут быть охарактеризованы суммой вышеперечисленных микробных метаболитов и хозяина, выявляемых в исследуемом материале методом масс-спектрометрии микробных маркеров. Это позволяет рекомендовать данный метод для мониторинга микробиома и метаболома в медицинских и санитарно-гигиенических исследованиях, включая функциональную геномику, интегральную и системную биологию, нутриционную геномику, фармакогеномику, а также поиск биомаркеров для прогноза заболеваний, их диагностики и мониторинга эффективности терапии. Высокая чувствительность и экспрессность метода делает его уникальным инструментом ранней диагностики инфекции, инструментом предсказательной, предупредительной персонализированной медицины.

**И.В. Золкина, И.С. Мамедов, П.Б. Глаговский,
Н.В. Лифанцева**

**ДИАГНОСТИКА ОСТЕОПОРОЗА
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

**I.V. Zolkina, I.S. Mamedov, P.B. Glagovsky,
N.V. Lifantseva**

**DIAGNOSIS OF OSTEOPOROSIS BY
CHROMATOGRAPHIC METHODS**

ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России,
Москва, Россия