

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

№ 1 (23)

2023

ИНФОРМАЦИОННО-РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	3
ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	3
Макарова И.А., Обрядина А.П. Вирус лейкоза крупного рогатого скота как этиологический фактор рака молочной железы человека	3
Инфекции человека и животных - зооантропонозы	9
Михайлова Ю.В., Обрядина А.П. Вирус лейкоза крупного рогатого скота - риск развития онкологических заболеваний у человека	9
Вопросы автоматизации лабораторных исследований	15
Линев А.А., Михайлова Ю.В., Обрядина А.П. От пипетки Пастера до полной автоматизации лабораторных исследований	15
Линев А.А. Особенности внедрения автоматизации иммунологических исследований	22
Нормативные документы	25

Учредитель: ООО Научно производственное объединение "Диагностические системы"

Главный редактор Михайлова Ю.В.

Адрес редакции

РОССИЯ, 603022, Н. Новгород, ул. Барминская, 8а

Тел./факс (831) 434-86-83, 467-82-18

E-mail: mikhailovauv@npods.ru; www.npods.ru

Зарегистрировано Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия

Регистрационное свидетельство ПИ №ФС 77-22849 от 30 декабря 2005 г.

Сдано в набор 18.12.2023

Подписано в печать 29.12.2023

Тираж 1500 экземпляров.

Отпечатано в ИП "Панин А.А.", 603138, Н, Новгород, ул. Строкина, д.8, оф. 124

Распространяется бесплатно. Коммерческое использование запрещено.

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бурков А.Н. (д.м.н., профессор),
Почетный председатель Редакционного совета

Обрядина А.П. (д.б.н.)

Пименов В.К. (к.б.н.)

Бочкова Г.Б. (к.т.н.)

Михайлова Ю.В. (к.б.н.)

Голубева И.Ф.

Плаксина Н.Б.

"В последние годы мы наблюдаем молниеносное развитие технологий, позволяющее нам совершать подвиги по спасению жизней, о которых раньше невозможно было даже мечтать"
Эван Бей

Уважаемые читатели!

Предлагаем вашему вниманию очередной выпуск информационно-реферативного журнала "Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний".

В условия стремительной урбанизации населения, быстро растущего технологического прогресса и увеличения возможностей для перемещения человека из одной части света в другую наблюдается значительное развитие системы здравоохранения, внедрение в лабораторную диагностику высоко производственного оборудования, позволяющего свести до минимума время получения результата без потери качества проводимого исследования. Вместе с тем, за последние десятилетия человечеству пришлось ни раз столкнуться с серьезными угрозами здоровью и жизни населения - пандемиями, вызванными вирусами животного происхождения. Ярким примером может служить пандемия COVID-19 в 2020-2023 гг., вызванная коронавирусом второго типа, наиболее вероятным природным резервуаром которого являются летучие мыши. Предупреждение появления новых вирусов потенциалом, являясь одной из наиболее актуальных задач современного здравоохранения.

Два первых раздела настоящего журнала: "Оригинальные статьи" и "Инфекции человека и животных" рассматривают возможность межвидовой передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) от животного к человеку. В представленном обзоре собраны данные литературы по встречаемости специфических антител к BLV и генома вируса у женщин с раком молочной железы (PMЖ), их корреляция с наличием на обследуемой территории популяций крупного рогатого скота (KPC), инфицированного BLV; указаны возможные пути передачи вируса человеку; предполагаемые механизмы развития онкогенеза у KPC и рассмотрен риск онкотрансформации клеток человека под воздействием данного вируса. К настоящему времени мнения о роли BLV в развитии злокачественных новообразований у человека расходятся. При этом, ряд исследователей приводят убедительные аргументы, что вирус лейкоза KPC может служить биомаркером/предиктором развития рака и представляет собой реальный риск для здоровья человека. Особенно негативные последствия могут быть при рекомбинации генома BLV с ДНК вируса Т-клеточного лейкоза человека, появление такого рекомбинанта в естественных условиях может крайне негативно отразиться на эпидемиологической обстановке, поскольку такой вирус, вполне вероятно, сможет с одинаковой эффективностью поражать как KPC, так и человека.

До настоящего времени основу прижизненной диагностики лейкоза, вызванного BLV, составляют сероло-

гические методы исследования: реакция иммунодиффузии и иммуноферментный анализ. В 2023 г. нижегородская компания ООО "НПО "Диагностические системы" совместно с "Приволжским исследовательским медицинским университетом (ПИМУ)" разработали уникальную по методике и потребительским характеристикам отечественную иммуноферментную тест-систему "ДС-ИФА-АНТИ-BLV", предназначенную для выявления суммарных антител к BLV в индивидуальных или сборных образцах сыворотки крови и индивидуальных образцах молока KPC. Разработка защищена патентом на изобретение и получила свое признание в ветеринарной лабораторной службе. На основе разработанного теста было проведено сравнение распространенности антител к BLV в сыворотке крови женщин с диагнозом PMЖ (n=52) и здоровых женщин (n=50) с использованием высокочувствительного стандартизованного иммуноферментного теста, результаты которого представлены в оригинальной статье.

Рубрика "Автоматизация лабораторных исследований" позволит читателю углубиться в малоизвестную историю становления лабораторной диагностики от появления первых методов исследования через долгий и тернистый путь создания инструментов, призванных ускорить и облегчить проведение анализов, до полной автоматизации работы без непосредственного участия оператора. Использование автоматизированного лабораторного оборудования помогает повысить эффективность и точность исследований путем уменьшения риска ошибок, связанных с человеческим фактором; сокращения затрат на персонал и ресурсы; одновременного выполнения серии тестов, ускоряя процесс проведения анализа. Статья "Особенности внедрения автоматизации иммунологических исследований" позволит читателю познакомиться с современными возможностями оснащения иммунологической лаборатории. В обзоре наглядно представлены готовые варианты внедрения необходимого оборудования как при частичной, так и полной автоматизации исследований в зависимости от потока проб и широты спектра исследуемых аналитов в отдельно взятой лаборатории.

В разделе "Нормативные документы" приведены выдержки из последних действующих нормативных правовых актов в сфере здравоохранения РФ, касающихся диагностики лейкоза KPC и лабораторного скрининга актуальных на текущий момент времени инфекций, утвержденных за период с 2021 по 2023 гг.

Надеемся, что опубликованные в нашем издании материалы будут полезны специалистам лабораторной службы, врачам клиницистам различных специальностей, научным работникам и студентам.

Вирус лейкоза крупного рогатого скота как этиологический фактор рака молочной железы человека

ООО НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород, Россия

Макарова И.А.,
Обрядина А.П.

Существует высокий риск возникновения тромбозов у больных COVID-19. Влияние онкогенных вирусов в настоящее время является основной вероятной гипотезой непосредственной причины рака молочной железы (PMЖ) у человека. В качестве потенциальных этиологических агентов развития данного вида рака рассматриваются такие онкогенные вирусы, как вирус опухоли молочной железы мыши (MMTV), вирус лейкоза крупного рогатого скота (BLV), вирус папилломы человека (ВПЧ) и вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ).

Было проведено сравнение распространенности антител к BLV в сыворотке крови женщин с диагнозом PMЖ ($n=52$) и здоровых женщин ($n=50$) с использованием высокочувствительного стандартизованного иммуноферментного теста. В результате проведенного тестирования антитела к BLV не были обнаружены и распределение значений оптических плотностей не имело достоверных различий в обеих обследованных группах.

В настоящее время существуют противоречивые данные по обнаружению антител к BLV у человека. По данным ряда авторов этот показатель может достигать до 12%. Другие исследователи не выявляют специфические антитела к BLV в своих работах у фермеров, ветеринаров, работников мясо- и молокоперерабатывающих предприятий, что связывают с отсутствием репликации вируса и экспрессии *gp51/p24* в крови человека в противоположность активному развитию инфекции у крупного рогатого скота (КРС).

Таким образом, наличие человеческих антител к BLV в сыворотке крови не может быть точным показателем BLV-инфекции, в то время как присутствие ДНК BLV в клетках человека потенциально можно рассматривать в качестве фактора риска PMЖ. Учитывая многообразие информации о связи онкогенных вирусов, в том числе BLV с PMЖ, необходимо поощрять элиминацию данного вируса у КРС, особенно в молочной промышленности.

Ключевые слова: вирус лейкоза крупного рогатого скота, рак молочной железы, антитела к BLV.

PMЖ является наиболее распространенным злокачественным заболеванием среди женщин во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2020 г. PMЖ был диагностирован у 2,3 млн. женщин. По прогнозам, к 2040 г. число случаев вырастет на 40% (до 3 млн. ежегодно). За 2020 г. 685 тыс. человек умерли от этого заболевания, к 2040 г. увеличение смертности ожидается более, чем на 50% [1].

В настоящее время основная причина PMЖ неизвестна, однако существует множество факторов риска: женский пол; возраст; мутации в генах *BRCA1*, *BRCA2* (*BReast CAncer 1 и 2*) и других; поздний возраст рождения детей; поздняя менопауза; длительное использование гормональных контрацептивов; неправильное питание; употребление табака и алкоголя; ожирение и инфекционные агенты [2, 3].

В большинстве случаев при PMЖ обнаруживаются низкие концентрации белка *BRCA1*, отвечающего за репарацию ДНК. Снижение содержания этого белка может быть обусловлено мутациями или эпигенетической инактивацией гена *BRCA1* [4]. В случае снижения количества этого белка блокируется процесс ремонта ДНК, что повышает риск возникновения PMЖ, но только у небольшого числа таких пациентов обнаружен мутантный ген *BRCA1*. Исследования показали, что менее чем 5% всех случаев PMЖ могут быть связаны с мутациями в генах с высокой пенетрантностью *BRCA1* и *BRCA2* [5]. К возрасту 70 лет кумулятивный риск для носителей мутаций в генах этих оценивается в 83-62%, соответственно [6]. Однако, на ненаследственный PMЖ приходится 90-95% случаев этого заболевания, при котором мутация в гене *BRCA1* отсут-

ВВЕДЕНИЕ

ствует. Одной из возможных причин снижения экспрессии *BRCA1* при РМЖ являются эпигенетические изменения гена: гиперметилирование его промотора, модификация гистонов и ремоделирование хроматина - индуцированные онковирусами [7, 8].

Влияние онкогенных вирусов в настоящее время является наиболее вероятной гипотезой непосредственной причины РМЖ у человека. Онкогенные вирусы, такие как вирус опухоли ММТВ, BLV, ВПЧ и ВЭБ рассматриваются как потенциальные этиологические агенты развития РМЖ [9, 10]. Так, высокая распространенность ДНК ВПЧ у больных РМЖ предполагает возможную связь между этими заболеваниями. Кроме того, было показано, что онкобелки *E6* и *E7* ВПЧ-16 и 18 непосредственно взаимодействуют с *BRCA1* и инактивируют его в раковых клетках молочной железы [11]. Согласно недавним исследованиям, геном вируса ММТВ идентифицируется в 30% при ненаследственном РМЖ, и только в 4% при РМЖ, обусловленном *BRCA1*. Таким образом, ММТВ может являться внешним, а не генетическим причинным фактором рака. Передача ММТВ у людей происходит через слюну, грудное молоко, собак и зараженные пищевые злаки. Во многих странах до 1% веса зерновых может по закону состоять из фекалий грызунов [12]. Частота встречаемости генома вируса ВЭБ в пять раз выше в тканях пациенток с диагнозом РМЖ, чем в контрольной группе с нормальной и доброкачественной тканью молочной железы. ВЭБ посредством активации сигнальных каскадов *HER2/HER3* приводит к злокачественной трансформации эпителиальных клеток молочной железы. Вирус играет роль в индукции эпигенетических изменений в генах-супрессорах опухоли: *BRCA1*, *BRCA2* и *p53*, *p14* [13, 14, 12]. Существуют данные, что в образцах, взятых у женщин, больных РМЖ, обнаруживаются геномы нескольких вирусов. Glenn W.K. et al. (2012) обнаружили геномные последовательности более, чем одного вируса (ВЭБ, ВПЧ высокого риска и ММТВ), сосуществующих примерно в 72% образцов, взятых у женщин с РМЖ. Показано, что онкобелки ВПЧ взаимодействуют с ВЭБ, усиливая инвазию клеток РМЖ [14], что может свидетельствовать о роли синергического взаимодействия онкогенных вирусов в канцерогенезе при РМЖ [15].

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (КРС) широко обсуждается как потенциальный онкоген: провирусная ДНК BLV обнаруживается в молочных и мясных продуктах, показана возможная связь между BLV-инфекцией и развитием РМЖ и других неопластических заболеваний [16, 17]. Вопрос о предполагаемой опасности вируса лейкоза КРС для человека является давним, но чрезвычайно ак-

туальным предметом научных дискуссий, учитывая высокую распространенность BLV-инфекции (от 39 до 100% в мясных и молочных стадах, соответственно) [18] и доказанную возможность перехода межвидового барьера [19]. Выявление участков генома BLV и белка *p24* в образцах тканей и культурах клеток молочной железы коров и человека доказывает, что BLV обладает тропизмом к клеткам этих тканей, в частности к эпителию [20]. BLV проникает в клетку хозяина, используя белок *AP3D1* в качестве рецептора, который консервативен у большинства видов млекопитающих. ДНК BLV обнаружена у овец и буйволов, что свидетельствует о циркуляции вируса среди нескольких видов в условиях совместного содержания животных [19].

Зоонозный потенциал этого вируса изучается уже около 40 лет, но окончательной ясности по данному вопросу пока нет. Недавние данные из разных стран показали различные проценты распространенности генома BLV при РМЖ: 74% в Беркли, Калифорния; 40,5% в Колумбии; 59% в Калифорнии, 80% у австралийских женщин; 34% у женщин в Техасе; 30,5% в Южной Бразилии, а самый высокий процент встречаемости BLV был обнаружен на уровне 95,9% в штате Минас-Жерайс, Бразилия [18]. В тоже время, в Китае и Японии BLV не был обнаружен в образцах тканей от пациентов с диагнозом РМЖ [21, 22]. Одной из причин, отсутствия выявления генома BLV при РМЖ в этих странах возможно является непереносимость лактозы, из-за которой потребление молока в Китае значительно ниже [23]. Согласно литературным данным, страны с высоким уровнем потребления сырого молока имеют максимальную частоту РМЖ [18].

Кроме прямого определения наличия инфекции, вызванной вирусом лейкоза КРС молекулярными методами, возможно использование серологических тестов, как более дешевых и удобных для массовых обследований. Мишенями, как правило, являются антитела, распознающие капсидный белок *p24*, кодируемый геном *gag* и поверхностный гликопротеин *gp51*, кодируемый *env-gp51* [24]. Первые эксперименты были опубликованы в 70-ых годах прошлого столетия: антитела к BLV в сыворотке крови человека методом иммунодиффузии в агаровом геле не были обнаружены, что сформировало мнение о низкой вероятности заражения человека вирусом лейкоза КРС. Однако в начале 2000-ых гг., с появлением более высокочувствительных тестов для выявления антител к BLV, при исследовании методом иммуноблотинга сывороток крови человека в 74% случаев были выявлены антитела против *p24*, что может быть свидетельством широкого распространения контактов людей с этим вирусом [25].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнение распространенности антител к BLV в сыворотке крови женщин с диагнозом РМЖ и здоровых женщин с использованием вы-

сокочувствительного стандартизованного иммуноферментного теста.

Были исследованы образцы сыворотки крови здоровых женщин ($n=50$) и женщин с диагнозом РМЖ ($n=52$). Средний возраст женщин, вклю-

ченных в исследование, составил 56,7 года (от 32 до 85 лет), распределение по возрасту в разных группах представлено на рисунке 1.

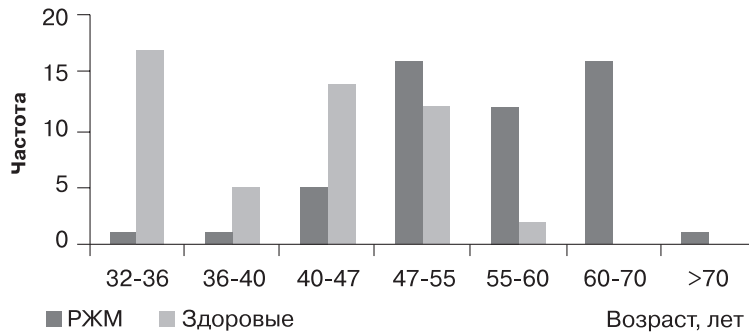


Рис. 1. Распределение по возрасту в разных группах (здоровые женщины и женщины с диагнозом РМЖ)

Тестирование проводили с использованием набора реагентов для выявления антител к BLV в сыворотке крови и молоке КРС методом иммуноферментного анализа ("ДС-ИФА-АНТИ-BLV", НПО Диагностические системы, серия 264005, годен до 2024-12-22) в соответствии с инструкцией производителя.

"ДС-ИФА-АНТИ-BLV" предназначен для выявления суммарных антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота (КРС) в индивидуальных или сборных образцах сыворотки крови и индивидуальных образцах молока КРС. Принцип

метода, используемого в "ДС-ИФА-АНТИ-BLV", основан на твердофазном иммуноферментном "сэндвич" анализе. Твердая фаза покрыта рекомбинантными антигенами BLV - *gp51* и *p24*. На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют с конъюгатом - смесь рекомбинантных антигенов BLV (*gp51* и *p24*), конъюгированных с биотином. Присутствующие в исследуемом образце антитела к BLV взаимодействуют одновременно с антигенами BLV в составе твердой фазы и конъюгата. Принцип метода изображен на рисунке 2.

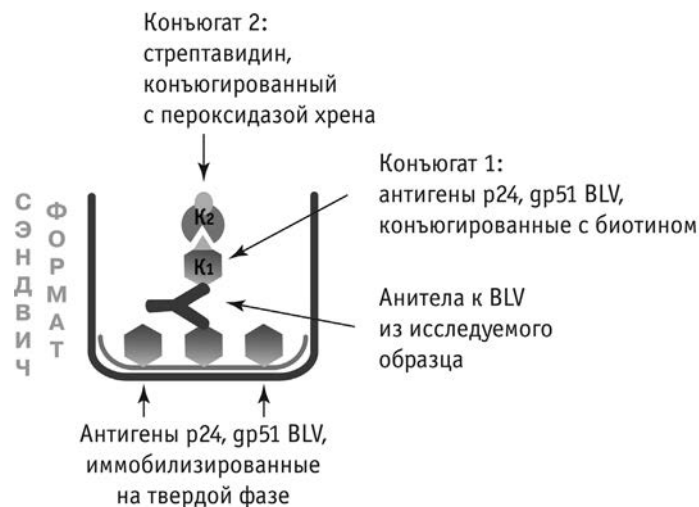


Рис. 2. Принцип метода, реализованного в тест-системе "ДС-ИФА-АНТИ-BLV"

Формат "ДС-ИФА-АНТИ-BLV" позволяет определять антитела к антигенам вируса лейкоза КРС независимо от их видовой специфичности и может быть использован для выявления антител к вирусным *gp51* и *p24* в сыворотке крови человека.

Для исследования аналитической чувствительности "ДС-ИФА-АНТИ-BLV" была использована стандартная сыворотка E05, разработанная референсной лабораторией по энзоотическому

лейкозу КРС Всемирной организации здоровья животных. Максимальное разведение E05, при котором регистрируется положительный результат в наборе реагентов "ДС-ИФА-АНТИ-BLV" составляет 1:1000, что превышает в 100 раз требование к тестам для серологической диагностики лейкоза КРС согласно Директиве 64/432/ЕЕС от 15 декабря 2009 (2009/976/EU) и подтверждает высокую аналитическую чувствительность теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И
ОБСУЖДЕНИЕ

Тестирование образцов сыворотки крови женщин с РМЖ и здоровых женщин в "ДС-ИФА-АНТИ-BLV" показало, что антитела к BLV в обеих исследованных группах отсутствуют, поскольку значения оптической плотности всех анализи-

руемых образцов ниже точки отсечения (ОП-крит.), которая составляет $<0,216$. Распределение результатов исследованных образцов сыворотки крови человека в обеих группах представлено на рисунке 3.

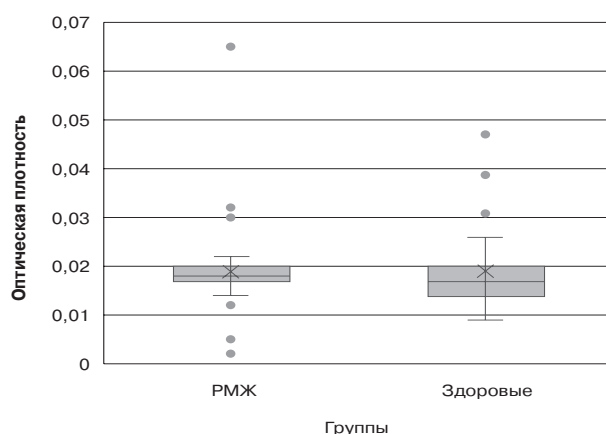


Рис. 3. Распределение результатов тестирования образцов сыворотки крови здоровых женщин и женщин с диагнозом РМЖ в "ДС-ИФА-АНТИ-BLV"

Распределение уровня сигналов (оптической плотности) в двух группах образцов сыворотки крови (здоровых женщин и женщин с диагнозом РМЖ) было оценено с помощью

непараметрического критерия Манна-Уитни, $p=0,1367$ ($p>0,05$), статистически значимых различий между группами выявлено не было (Табл. 1).

Таблица 1

Распределение уровня сигналов (оптической плотности) в двух группах

Параметр	Группы	
	РМЖ	Здоровые
Медиана	0,018	0,017
25-перцентиль	0,017	0,014
75-перцентиль	0,020	0,020
Минимум	0,002	0,009
Максимум	0,065	0,047
Критерий Манна-Уитни, p	0,1367	

Таким образом, не было обнаружено детектируемых антител к BLV в обеих исследованных группах и распределение значений оптических плотностей не имело достоверных различий.

В настоящее время существуют противоречивые данные по обнаружению антител к BLV у человека. Так, у 2 из 28 человек (7,1%), работающих на скотобойнях, были определены антитела к BLV с помощью реакции иммунодиффузии. Провирус BLV не был идентифицирован ни в одном из этих 28 образцов [26]. В Иране общая

распространенность антител к BLV в образцах человека составила 12,5% (57/454). Только в 7 из 57 положительных на антитела к BLV образцов выявлен геном вируса методом ПЦР [27]. Только у 2 из 1500 образцов сыворотки крови человека (0,1%) были обнаружены антитела к *gp51* BLV [28]. Авторы в работах, которых были обнаружены человеческие антитела к BLV, наиболее вероятной причиной этого считают иммунную реакцию на инактивированный нагреванием вирус, потребляемый в пастеризованных молочных и термически обработанных мясных продуктах [29].

Такие данные контрастируют с другими исследованиями, в которых не удалось обнаружить антитела к BLV у людей таких профессий, как фермеры, ветеринары, работники мясоперерабатывающих и молокоперерабатывающих предприятий [30]. Провирусная ДНК BLV и антитела класса М и G к вирусным белкам *gp51* и *p24* не обнаружены в 97 образцах крови человека и в 23 образцах ткани рака молочной железы [31]. По мнению некоторых авторов, BLV может не реплицироваться и не экспрессировать *gp51* или *p24* в крови человека (Yamanaka M.P. et al., 2022); у КРС же напротив - уровень экспрессии этих белков высокий, по-видимому, это связано с тем, что геномная транскрипция BLV является гормонозависимой, стимулируется прогестероном и кортикостероидами, а самки КРС в течение своего репродуктивного возраста находятся в постоянном состоянии беременности и лактации (Buehring G.C. et al., 2019).

Злокачественные новообразования молочной железы не вызываются прямым взаимодействием с геномом хозяина. Вместо этого предполагается, что BLV вызывает дефекты в механизмах, ответственных за репарацию пар оснований, или другие виды мутаций, приводящие к окислительному повреждению. Мутации со временем накапливаются и приводят к различным видам рака, например, к раку легких или молочной железы [3]. Геном BLV характеризуется наличием основных генов (*pro*, *pol*, *env*, *gag*), дополнительных генов (*G4*, *R3*) и регуляторных генов (*rex* и *tax*). *Tax* является онкогеном и транслируется в белок *Tax*, который трансформирует нормальные клетки в злокачественные за счет иммортализации лимфоцитов, ингибирует процесс восстановления поврежденной ДНК, усиливает неконтролируемое деление клеток [15].

Таким образом, наличие человеческих антител к BLV в сыворотке крови не может быть точным показателем BLV-инфекции, в то время как присутствие ДНК BLV в клетках человека потенциально можно рассматривать в качестве фактора риска РМЖ.

Разработка убедительных доказательств вирусной причины РМЖ чрезвычайно затруднена, поскольку доля вирусных нуклеиновых кислот в образце с опухолевыми клетками обычно очень мала по сравнению с генетическим материалом, полученным от хозяина. MMTV и BLV являются ретровирусами. Геномы ретровирусов

редко превышают 10-12 тыс. пар нуклеотидов и, следовательно, составляют незначительную часть генома инфицированной клетки-хозяина. Зараженный тип клеток может составлять лишь небольшую часть образца, а инфицированные клетки могут содержать относительно небольшое количество копий вирусного генома [9].

Учитывая многообразие информации о связи онкогенных вирусов, в том числе BLV, с раком молочной железы, необходимо поощрять элиминацию BLV у КРС, особенно в молочной промышленности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Arnold M., Morgan E., Rumgay H., Mafra A., Singh D., Laversanne M. et al. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022; 66:15-23.

2. Kashyap D., Pal D., Sharma R., Garg V.K., Goel N., Koundal D. et al. Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. *Biomed. Res. Int.* 2022; 9605439. doi: 10.1155/2022/9605439

3. Khatami A., Pormohammad A., Farzi R., Saadati H., Mehrabi M., Kiani S.J. et al. Bovine Leukemia virus (BLV) and risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Infect. Agent. Cancer*. 2020; 15: 48.

4. Romagnolo A.P., Romagnolo D.F., Selmin O.I. BRCA1 as target for breast cancer prevention and therapy. *Anticancer Agents Med. Chem.* 2015; 15(1): 4-14.

5. Skol A.D., Sasaki M.M., Onel K. The genetics of breast cancer risk in the post-genome era: thoughts on study design to move past BRCA and towards clinical relevance. *Breast Cancer Res*. 2016; 18(1): 99. doi: 10.1186/s13058-016-0759-4

6. Sekine M., Nishino K., Enomoto T. Differences in Ovarian and Other Cancers Risks by Population and BRCA Mutation Location. *Genes (Basel)*. 2021; 12(7): 1050. doi: 10.3390/genes12071050

7. Polansky H., Schwab H. How latent viruses cause breast cancer: An explanation based on the microcompetition model. *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 2019; 19(3): 221-6.

8. Pietropaolo V., Prezioso C., Moens U. Role of Virus-Induced Host Cell Epigenetic Changes in Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(15): 8346. doi: 10.3390/ijms22158346

9. Lawson J.S., Salmons B., Glenn W.K. Oncogenic Viruses and Breast Cancer: Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV), Bovine Leukemia Virus (BLV), Human Papilloma Virus (HPV), and Epstein-Barr Virus (EBV). *Front. Oncol.* 2018; 8: 1. doi: 10.3389/fonc.2018.00001

10. Arias-Calvachi C., Blanco R., Calaf G.M., Aguayo F. Epstein-Barr Virus. Association with Breast Cancer: Evidence and Perspectives. *Biology (Basel)*. 2022; 11(6): 799. doi: 10.3390/biology11060799

ЛИТЕРАТУРА

11. Zhang Y., Fan S., Meng Q., Ma Y., Katiyar P., Schlegel R. et al. BRCA1 interaction with human papillomavirus oncoproteins. *J. Biol. Chem.* 2005; 280(39): 33165 - 77. doi.org/10.1074/jbc.M505124200
12. Lawson J.S., Glenn W.K. Catching viral breast cancer. *Infect. Agent. Cancer.* 2021; 16(1): 37.
13. Ali S.H.M., Shakir H., Al-Alwany M., Al-Wadi G.L.A., Huda Q., AL M.A. et al. Co-expressional protein products of BRCA-1 and EBV-EBNA-1 genes in tissues from human female patients with breast cancers: an immunohistochemical screening study. *Int. J. Che.*
14. Yahia Z.A., Adam A.A., Elgizouli M., Hussein A., Masri M.A., Kamal M. et al. Epstein Barr virus: a prime candidate of breast cancer aetiology in Sudanese patients. *Infect. Agent. Cancer.* 2014; 9(1): 9.
15. Afzal S., Fiaz K., Noor A., Sindhu A.S., Hanif A., Bibi A. et al. Interrelated Oncogenic Viruses and Breast Cancer. *Front. Mol. Biosci.* 2022; 9: 781111. doi: 10.3389/fmolb.2022.781111
16. Marawan M.A., Alouffi A., El Tokhy S., Badawy S., Shirani I., Dawood A. Bovine Leukaemia Virus: Current Epidemiological Circumstance and Future Prospective. *Viruses.* 2021; 13(11): 2167. doi: 10.3390/v13112167
17. Andreolla A.P., Erpen L.M.S., Frandoloso R., Kreutz L.C. Development of an indirect ELISA based on recombinant capsid protein to detect antibodies to bovine leukemia virus. *Braz. J. Microbiol.* 2018; 49(1): 68-75.
18. Khan Z., Abubakar M., Arshed M.J., Aslam R., Sattar S., Shah N.A. et al. Molecular investigation of possible relationships concerning bovine leukemia virus and breast cancer. *Sci. Rep.* 2022; 12(1): 4161. doi: 10.1038/s41598-022
19. Olaya-Galan N.N., Corredor-Figueroa A.P., Velandia-Alvarez S., Vargas-Bermudez D.S., Fonseca-Ahumada N., Nunez K. et al. Evidence of bovine leukemia virus circulating in sheep and buffaloes in Colombia: insights into multispecies infection. *Arch V.* 2022; 167(3): 807-17.
20. Mesa G., Ulloa J.C., Uribe A.M., Gutierrez M.F. Bovine Leukemia Virus Gene Segment Detected in Human Breast Tissue. *Open J. of Med. Microb.* 03(01): 84-90.
21. Zhang R., Jiang J., Sun W., Zhang J., Huang K., Gu X. et al. Lack of association between bovine leukemia virus and breast cancer in Chinese patients. *Breast Cancer Res.* 2016; 18(1): 101. doi:10.1186/s13058-016-0763-8
22. Saito S., Kitamura-Muramatsu Y., Komine F., Polat M., Takeshima S.N., Takei M., Aida Y. Absence of bovine leukemia virus proviral DNA in Japanese human blood cell lines and human cancer cell lines. *Arch. Virol.* 2020; 165(1): 207-14. doi:10.1007/s00705-019-0447.
23. Gao A., Kouznetsova V.L., Tsigelny I.F. Bovine leukemia virus relation to human breast cancer: Meta-analysis. *Microb. Pathog.* 2020; 149: 104417. doi:10.1016/j.micpath.2020.104417.
24. Polat M., Takeshima S.N., Aida Y. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus. *Virol J.* 2017; 14(1): 209. doi: 10.1186/s12985-017-0876-4.
25. Buehring G.C., Philpott S.M., Choi K.Y. Humans have antibodies reactive with Bovine leukemia virus. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2003; 19(12): 1105-13.
26. Zamora-Avila D.A., Zapata-Benavides P., Rosales S.C., Avalos-Ramirez R. Serological detection of bovine leukemia virus in slaughterhouse workers from San Nicols de los Garza, Nuevo Len, Mexico. *African J. of Microbiol.* 2013; 7(24): 3042-304.
27. Nikbakht Gh., Rabbani Z., Emam M., Rezatofighi S.E., Brujeni G.N. Serological and genomic detection of bovine leukemia virus in human and cattle samples. *Int. J. of Vet. Res.* 2010; 4: 253-8.
28. Schwingel D., Andreolla A.P., Erpen L.M.S., Frandoloso R., Kreutz L.C. Bovine leukemia virus DNA associated with breast cancer in women from South Brazil. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 2949. doi: 10.1038/s41598-019-39834-7
29. Buehring G.C., DeLaney A., Shen H., Chu D.L., Razavian N., Schwartz D.A. et al. Bovine leukemia virus discovered in human blood. *BMC Infect Dis.* 2019; 19(1): 297. doi: 10.1186/s12879-019-3891-9
30. Bartlett P.C., Ruggiero V.J., Hutchinson H.C., Droscha C.J., Norby B., Sporer K.R.B. et al. Current Developments in the Epidemiology and Control of Enzootic Bovine Leukosis as Caused by Bovine Leukemia Virus. *Pathogens.* 2020; 9(12): 1058. doi: 10.3390/pathogens9121058
31. Yamanaka M.P., Saito S., Hara Y., Matsuura R., Takeshima S.N., Hosomichi K. et al. No evidence of bovine leukemia virus proviral DNA and antibodies in human specimens from Japan. *Retrovirol.* 2022; 19(1): 7. doi: 10.1186/s12977-022-00592-6

Инфекции человека и животных - зооантропонозы

Михайлова Ю.В., Обрядина А.П.

Вирус лейкоза крупного рогатого скота - риск развития онкологических заболеваний у человека

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Лейкоз крупного рогатого скота (КРС) - хроническое вирусное заболевание, характеризующееся лимфоцитозом или образованием опухолей в кроветворных и других органах и тканях. Возбудителем является вирус лейкоза КРС (*bovine leukemia virus - BLV*). BLV представляет собой РНК-содержащий ретровирус, вместе с вирусом Т-клеточного лейкоза человека (*Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)*) относится к семейству *Retroviridae* [1]. Вирус широко распространен в некоторых регионах (например, в США) и приносит ощутимый ущерб молочному и мясному животноводству.

Экономические последствия лейкоза КРС весьма значительны и заключаются в: преждевременной отбраковке и убое больных животных-коров и быков-производителей; стоимости обеззараживания (пастеризации) молока, затрат на утилизацию трупов больных животных; отсутствие поступления молодняка, утрате его воспроизводительной ценности и ограничении сбыта; переводе племенных животных в товарную категорию; стоимости проведения ветеринарных, ветеринарно-технических и санитарно-гигиенических мероприятий, а также мер по борьбе с лейкозом. У животных с лейкозом более короткий срок хозяйственного использования и минимальная продуктивность (10-12,7%) [2]. Кроме того, зараженные животные более чувствительны к инфекционным заболеваниям по сравнению с интактными. Так, Климовым Е.А. с соавт. (2012) было установлено, что последствием заражения BLV является снижение показателей гуморального иммунитета у инфицированных животных. Исследователи продемонстрировали, что коровы с BLV имели более низкие концентрации иммуноглобулина А (*IgA*) в молоке и слюне [3]. У инфицированного BLV или больного лейкозом животного иммунный ответ на инактивированные противовирусные вакцины гораздо ниже, чем у здоровых коров. Исследователями было установлено, что в большинстве случаев животные со слабым иммунным ответом на вакцинацию были инфицированы вирусом лейкоза [4].

Структура генома и свойства антигенов BLV близки с широко распространёнными в человеческой популяции вирусами HTLV и отличаются от любого другого класса известных ретровирусов. Эти вирусы были отнесены к новому

роду, впоследствии названному Дельтатаретровирусы [5, 6]. Первичная структура *p30 (envelope) BLV* имеет 36% идентичности в аминокислотной последовательности соответствующего белка HTLV [1]. Экспериментально сходство первичной структуры белка двух вирусов было показано в ряде работ отечественных и зарубежных исследователей (Москалин Р. с соавт., 1996; Сюрин В.Н. с соавт., 1998; Mariujama K. et al., 1989). Так, продемонстрирована перекрестная реактивность антител против BLV на антигены HTLV-1, и наоборот, в иммунохимической реакции [7].

Преимущественно вирус инфицирует В-лимфоциты, вместе с тем он способен размножаться в Т-лимфоцитах, моноцитах, эпителиальных клетках молочной железы и гранулоцитах. BLV считается пожизненной инфекцией, поскольку вирус интегрируется в ДНК инфицированных им клеток хозяина в качестве провируса (реже существует в виде неинтегрированных кольцевых или линейных форм). Провирусная интеграция является одной из частей его жизненного цикла, но не обязательной для возникновения злокачественных новообразований [5]. BLV, как и его близкий родственник HTLV-1, обычно обнаруживаются неинтегрированными в лимфоцитах на бессимптомных и предзлокачественных стадиях лейкоза КРС (Buehring G.C. et al., 2015). На поздних стадиях заболевания происходит интеграция в ДНК клетки-хозяина, сайты интеграции BLV оказываются часто абсолютно случайными (Murakami H., 2011) [8].

Одним из самых ранних признаков инфицирования является начало развития гуморального иммунного ответа: примерно через 1-8 недель после инокуляции начинается выработка антител к капсидным и оболочечным белкам вируса. Эти антитела можно обнаружить с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), чаще метод направлен на выявление антител к капсидному белку *p24* и/или к гликопротеину оболочки *gp51*. Моноклональные антитела к *gp51* BLV взаимодействуют с 8 независимыми эпитопами на молекуле белка, из которых 3 эпитопа (*F, G, H*) являются биологически активными, определяющими инфекционность вируса и способность вируспродуцирующих клеток формировать синцитий. BLV-инфекция также вызывает как вирусозависимый, так и вирусонезависимый ответ *CD4*-хелперных Т-клеток (Stone D.M. et al., 2000; Oldstone M.B.A. et al., 2006) [6].

Отсутствие экспрессии генома BLV при наличии транскрипционных провирусов в опухолевых клетках дало возможность предположить, что причиной опухолевой трансформации клеток вирусом лейкоза КРС является нарушение нормальной экспрессии клеточного генома клетки хозяина. К настоящему времени считается, что в процессе патогенеза вирус вызывает дестабилизацию генома клетки хозяина, что ведет к образованию синцития (слиянию клеток), активации *tax*-гена генома КРС, что обуславливает опухолевое перерождение клетки. Рассматривая функциональную роль отдельных генов BLV, следует отметить, что длинные концевые повторы (*long terminal repeat, LTR*), состоящие из 530 пар нуклеотидов, так же как у HTLV-1, выполняют роль усилителя транскрипции - увеличивают экспрессию *tax*-гена генома хозяина [1]. Хотя основы трансформации клеточного генома остаются до сих пор не изучены, предполагается, что *tax*-белок, синтезируемый под действием BLV, вызывает дефицит механизмов репарации ДНК, предотвращает апоптоз, ингибирует опухолевые супрессоры, что приводит к накоплению мутаций, которые, в свою очередь, могут привести к онкотрансформации инфицированных клеток. Примерно у 5% инфицированных BLV животных развивается лейкемия [8].

Вопрос о способности вируса к межвидовому распространению от КРС к человеку остается открытым. Ряд исследователей склоняются к мнению, что вирус лейкоза коров не вызывает лейкоза у человека, то есть обладает видовой специфичностью [9]. Этот экзогенный вирус в естественных условиях поражает только КРС. Вместе с тем, Гулюкиным М.И. с соавт. (2008) в экспериментальных условиях была показана межвидовая передача BLV среди разных видов животных [10]. Чувствительными к инфекции в условиях *in vitro* считаются буйвол, овца, коза, свинья, лошадь, кролик, обезьяна, в культуре клеток которых BLV способен размножаться. Так, экспериментальным путем была показана возможность развития лимфосаркомы у овец (34,8%; 24/69) при заражении вирусом BLV из материалов, полученных из бычьей лимфосаркомы [11]. С другой стороны, возможность межвидового переноса дельтаретровирусов от человека к животным была продемонстрирована в работе Zhao T.M. et al. (2002). Авторы сообщили о случаях рака эпителия у двух кроликов, инфицированных штаммом *K30r*, который являлся искусственно созданным молекулярным клоном HTLV-1. Наличие течения хронической бессимптомной инфекции у обоих этих кроликов было установлено по наличию антител к штамму *K30r* в крови и выделению РНК вируса из лимфоцитов в различные сроки после инъекции. Интересно, что изначально штамм *K30r* начал циркулировать в кровотоке, поражая лимфоциты, но в дальнейшем смог изменить тканевый тропизм и инфицировать клетки тканей вен. Полученные результаты являются первым экспериментальным доказательством межвидовой передачи дельтаретровирусов с последующим развитием заболевания [12].

Подобные исследования, демонстрирующие репродукцию дельтаретровирусов в инфицированных культурах клеток тканей животных других видов, служат своего рода доказательством возможности межвидовой передачи BLV от КРС к человеку. Сведения о возможности заражения человека BLV представлены в обзорах ряда отечественных и зарубежных авторов: Климов Е.А., Косовский Г.Ю. (2012) [3]; BurrIDGE G.C. et al. (2001-2019) [13, 14, 15, 16, 17] и Mesa G. et al. (2013) [18].

За период 2002-2019 гг. Buehring G.C. et al. неоднократно ретроспективно проводили исследования по типу "случай-контроль" с целью изучения взаимосвязи наличия ДНК BLV (комплементарная одноцепочечная ДНК) в эпителии молочной железы человека с развитием рака молочной железы. В 2003 г. с использованием высокочувствительного метода иммуноблотинга были исследованы сыворотки крови от 257 здоровых женщин на содержание 4-х изоформ антител (*M, A, G, G4*) к капсидному (*p24*) антигену BLV. Было установлено, что 39% исследованных сывороток содержат антитела против капсидного антигена вируса лейкоза КРС [17].

По результатам исследования архивных (фиксированных формалином) тканей молочной железы, полученных в 2002-2008 гг. от женщин, перенесших операцию по удалению молочной железы, и доноров тканей после маммопластики из Объединенного банка тканей человека (Cooperative Human Tissue Network, США) ($n=239$), было показано, что частота встречаемости ДНК BLV в эпителии молочной железы женщин с раком молочной железы составила 59%. Этот показатель был значительно выше, чем в контрольной группе (29%) (отношение шансов (ОШ) с поправкой на множественность - 3,07, доверительный интервал (ДИ): 1,66-5,69, $p=0,0004$, относительный риск - 37%). У женщин с предраковыми изменениями молочной железы частота встречаемости ДНК BLV была ниже (38%), чем таковая у женщин с раком молочной железы и по сравнению с контролем ($p<0,001$). Следует отметить, что авторы выявляли ДНК BLV с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) - гибридизации *in situ*, а определение случая как рака молочной железы по сравнению с нормальным состоянием (женщины без рака молочной железы в анамнезе) устанавливали на основании медицинской документации и исследования тканей молочной железы патологоанатомическим (гистологическим) методом. [16, 13]. По результатам проведенной работы авторы сделали вывод, что обнаружение ДНК BLV в тканях молочной железы условно здоровых женщин с учетом длительности латентного периода развития рака (примерно 20-30 лет с момента инициирующего(их) канцерогенного события(й)) является биомаркером риска трансформации клеток хозяина в злокачественную опухоль.

Полученные ранее данные по взаимосвязи обнаружения BLV с развитием рака молочной железы в американской популяции были проверены теми же авторами на группе австралийских женщин ($n=96$). Частота выявления ДНК BLV составила 80% (40/50) у женщин с раком молочной железы против 41% (19/46) женщин без рака в анамнезе (ОШ - 4,72; ДИ: 1,71±13,05). Эти результаты подтвердили данные предыдущего исследования. Проведенное проспективное исследование парных образцов ткани молочной железы, удаленных с разницей в 3-10 лет в ходе двух не связанных между собой процедур, от 48 обследуемых женщин показало, что из первично доброкачественных парных образцов были диагностированы как злокачественные 74% (23/31) (табл. 1). Авторы высказали предположение о причинно-следственной временной связи между инфицированием BLV и последующим развитием рака, поскольку вирус лейкоза КРС уже присутствовал в доброкачественной ткани молочной железы за 3-10 лет до диагностики злокачественной опухоли [14].

Вероятность развития рака молочной железы у женщин, эпителиальные клетки молочной железы которых содержали BLV в обоих или только в одном из парных образцов

Наличие вируса*		Наличие вируса*				Частота развития рака
		BLV+ → BLV+	BLV+ → BLV-	BLV- → BLV+	BLV- → BLV-	
Патология молочной железы	Д → 3	20	2	5	1	58,3% (28/48)
	ПР → 3	3	0	0	0	6,3% (3/48)
	З → 3	6	7	2	2	35,4% (17/48)
Частота развития рака		60,4% (29/48)	18,8% (9/48)	14,6% (7/48)	6,3% (3/48)	48

Примечание:

Д - доброкачественное, ПР - предзлокачественное, З - злокачественное новообразование.

* сравнение первого и второго образцов на наличие BLV проведено для каждого донора, все остальные категории объединены по нескольким причинам:

- женщины с более длительным и постоянным присутствием BLV в молочной железе (оба образца позитивны), что с большей вероятностью приведет к развитию злокачественной опухоли;
- женщины, у которых образцы стали из BLV-отрицательных положительными - могли заразиться вирусом незадолго до проведения второй процедуры, BLV успел сыграть важную роль в возникновении/причине рака молочной железы;
- женщины, у которых BLV сменил статус с положительного на отрицательный - возможно, полностью очистились от вируса и, следовательно, могут представлять собой популяцию, менее восприимчивую к заболеванию, вызываемому BLV.

Таким образом, в данных работах наличие амплифицированной ДНК BLV достоверно ассоциировалось с развитием рака молочной железы. При этом, величина ОШ была сопоставима с таковой для общепризнанных факторов риска развития рака молочной железы, связанных с репродуктивным анамнезом, гормонами и образом жизни, и превышала только факторы риска, связанные с генетикой (семейный анамнез по раку молочной железы), высокой дозой ионизирующего излучения и возрастом [13]. Так, обнаружение маркеров BLV может служить биомаркером, позволяющим выявлять женщин с повышенным риском развития рака молочной железы [14]. По мнению авторов, полученные результаты исследований должны лечь в основу расширения методов диагностики и способов первичной/вторичной профилактики рака молочной железы у женщин [13].

Противоположные результаты представили в своей работе Zhang R. et al. (2016). В исследование были включены женщины из трех провинций Китая, где ранее был установлен высокий уровень инфицированности коров BLV. ПЦР-анализ показал, что ДНК BLV была обнаружена в 50,0% образцов крови КРС, однако, положительных результатов на наличие BLV в образцах крови как здоровых, так и больных раком молочной железы женщин ($n=160$) обнаружено не было. Серологическое исследование также продемонстрировало наличие специфических антител в 47,3% образцов крови КРС, в то время как ни один из образцов крови женщин с раком молочной железы или без него не был положительным на антитела к BLV. Аналогично этим данным вирус не был обнаружен ни в одном исследованном образце тканей опухоли молочной желе-

зы, полученной от обследованных женщин. Авторами было высказано мнение об отсутствии риска инфицирования человека BLV при контакте с больными животными [19]. Неоднозначные результаты были получены ранее в работе Mesa G. et al. (2013) при исследовании методом ПЦР 106 образцов ткани молочной железы (банк тканей из лаборатории патологии в больнице Сан-Игнасио, Колумбия (San Ignacio Hospital, Colombia)). Так, не было установлено достоверных различий в частоте обнаружения ДНК BLV в исследуемом материале в зависимости от наличия или отсутствия злокачественной патологии в анамнезе у женщин: в 43 (40,5%) случаях выявлялся сегмент гена BLV, в том числе в 19 (35,8%) пробах тканей, пораженных раком, и в 24 (45,2%) пробах без признаков рака молочной железы. Представляет интерес, проведенный авторами анализ риска, связанного с возрастом и типом патологии, ассоциированной с наличием BLV и рака молочной железы. Образцы были распределены на 4 возрастные группы (табл. 2), в которых было определено наличие BLV и рака в каждой возрастной группе. Средний возраст женщин с раком молочной железы составлял 46,4 года и 52,2 года - без клинических признаков данного вида рака. Не было выявлено значимых различий, связанных с наличием BLV и раком молочной железы (ОШ - 0,62; ДИ: 0,28-1,35). Для переменной "возраст" был проведен бивариационный анализ сравнения каждой возрастной группы с тремя другими. Из табл. 2 видно, что в группе женщин в возрасте от 41 до 60 лет с раком молочной железы имеется наибольший риск инфицирования BLV по сравнению с другими группами (ОШ - 0,29; ДИ: 0,08-0,97).

**Встречаемость BLV в ткани с наличием рака молочной железы и взаимосвязь с возрастом женщин.
Бивариационный анализ.**

Возрастные группы	BLV+, абс.	BLV-, абс.	Всего, абс.	ОШ	ДИ
18-25	2	3	5	1,33	0,20-8,80
26-40	6	6	12	2,41	0,64-9,01
41-60	6	22	28	0,29	0,08-0,97
Старше 60	4	4	8	2,21	0,48-10,15
Всего	18	35	53		

Примечание:

ОШ - отношение шансов, ДИ - доверительный интервал

Аналогичный анализ был проведен и для непатологической ткани молочной железы с целью выявления ассоциаций между возрастными группами и наличием BLV, а также ассоциации с наиболее распространенными патологиями (протоковой карциномой и фиброаденомой) и наличием BLV. Значимых результатов не было обнаружено ни в одном из рассматриваемых условий [18].

Интересным является предположение, высказанное в своей работе Gillett N. et al. (2007) о присутствии BLV у некоторых людей в латентном состоянии [6]. В такой ситуации интерес представляет взаимосвязь наличия антител к BLV с инфицированием клеток крови, которая была оценена в работе Buehring G.C. et al., проведенной в 2019 г. Для определения IgG, M и A авторы использовали метод ИФА, ДНК BLV выявляли в клетках крови (лейкоцитах, тромбоцитах) с помощью ПЦР и секвенирования по Сэнгеру. Частота выявления ДНК BLV в клетках крови составила 28% (36/95). Антитела класса G были обнаружены в 32% (30/95), IgM - в 58% (55/95), IgA - в 32% (30/95) случаев. Значимой корреляции между наличием антител какого-либо изотипа и ДНК BLV установлено не было [15]. Это исследование было одним из первых, в котором поднимался вопрос о том, может ли инфицирование лейкоцитов BLV привести к лейкозу у человека, как это происходит у инфицированного вирусом КРС. Обнаружение генетического материала вируса лейкоза КРС в клетках крови служит подтверждением предыдущих данных других авторов об способности BLV инфицировать не только клетки молочной железы и позволяет предположить, что лейкоциты и/или тромбоциты являются дополнительными типами клеток человека, которые могут быть инфицированы этим дельтаретровирусом (Goff S.P. et al., 2007; Gillet N.A. et al., 2007). Клетки, инфицированные BLV и его близким родственником (HTLV), редко продуцируют инфекционные внеклеточные частицы BLV и, по-видимому, контакт между клетками является важным фактором для передачи вируса от инфицированной к неинфицированной ткани, в качестве средства передачи вируса в различные места его локализации выступают клетки крови человека [6]. Другим фактором передачи вируса от клетки к клетке у КРС являются экзосомы, выделяемые инфицированными BLV клетками КРС. Подобные механизмы передачи вируса может быть реализован и в организме человека (Goff S.P. et al., 2007). Изучение формирования

злокачественных нелимфоидных новообразований у КРС затруднено по причине раннего убоя скота, инфицированного BLV, и недостаточного времени для развития рака. Таким образом, широкая циркуляция инфицированных клеток в крови может способствовать транзиту BLV в различные внутренние ткани/органы с возможностью их заражения и последующего развития рака [15].

Существует гипотеза, что BLV может вызывать рак молочной железы аналогично тому, как HTLV-1 вызывает Т-клеточный лейкоз/лимфому у человека через белок *tax*, описанный выше, и другие общие характеристики механизма онкогенеза [20]. Так, в Т-клетках, инфицированных HTLV-1, наблюдается аномальная транскрипция, нарушение репарации ДНК, повышенная нестабильность генома и дерегуляция контрольных точек клеточного цикла. В литературе был описан случай ускорения четырех видов рака у реципиента, инфицированного HTLV-1 при переливании крови [6].

Вместе с тем, усиление экспрессии *tax*-гена может являться не единственным механизмом онкотрансформации инфицированных клеток у человека. Учитывая, что у 35,8% женщин с раком молочной железы в тканях присутствовал BLV, Mesa G. et al. (2013) предположили, что трансформирующая роль BLV в молочной железе человека может быть обусловлена одним из следующих механизмов:

1) Экспрессия *tax*-гена, трансляция белка, участвующего в транскрипционных вирусных процессах и приводящего к увеличению соотношения экспрессии генов *bcl-2/bax*, с которым, в свою очередь, связывают генез лейкемии у инфицированных коров (Takahashi M. et al., 2005). В ряде лабораторных исследований было показано, что *tax*-ген может трансформировать клетки *in vitro* и быть онкогенным в животных моделях, где онкотрансформация клеток запускается при сочетании *tax*-гена с онкогеном *ha-ras* (Florins A. et al., 2007; Gillet N. et al., 2007);

2) Процесс интеграции ДНК BLV вблизи высокоактивных сегментов клеточного генома, связанных с клеточным делением (Fulton B. et al., 2006). Так, вирус лейкоза саркомы птиц (avian sarcoma leukosis virus, ASLV) может интегрироваться во многие участки клеточного генома, но при возникновении опухоли в организме хозяина, вирус обнаруживается вблизи гена *c-myc*, кодирующего белок Мус, который, в свою очередь, участвует в контроле синтеза клеточной ДНК (Fulton B. et al., 2006; Klener P. et al., 2006). Аналогичная ситуация про-

исходит с вирусом опухоли молочной железы мышей (*mouse mammary tumor virus*, *MMTV*), который локализуется в местах клеточного генома, которые индуцируют клеточную пролиферацию путем инсерционного мутагенеза или транскрипционной активации близких онкогенов (Klener P. et al., 2006; Gallego M., 2009);

3) блокирование генов-супрессоров опухоли и генов активации апоптоза. Мутации в гене-супрессоре *p53* встречаются примерно у 20% женщин с раком молочной железы, а мутации онкогена *ras* - у 30% лиц со злокачественными новообразованиями (Javier R., Butel J., 2008) [18]. По мнению авторов, интеграция ДНК BLV в клеточный геном вблизи указанных выше генов может послужить триггером для возникновения подобных мутаций.

Не исключена и возможность рекомбинации между BLV и HTLV-1 [21]. Так, Климовым Е.А., Косовским Г.Ю. (2012) показано, что замена участка РНК BLV, содержащего первичных или вторичных сигналы инкапсулирования, на гомологичный регион HTLV-1 позволяет получить рекомбинантный вирус, способный реплицироваться в клеточной культуре человека. Гетерологичные РНК могут быть упакованы в частицы BLV с помощью минимальных последовательностей укладки РНК. Вероятность такого события достаточно высока, поскольку сходство геномов обоих дельтаретровирусов составляет до 58%, т.е. для осуществления рекомбинации теоретически необходимо только одно условие - присутствие в клетке обоих провирусов [3].

Что касается возможных путей передачи вируса, то на базе Национального института рака (The National Cancer Institute (NCI), США) был проведен эпидемиологический мониторинг по выявлению связи между лейкемией людей и наличием популяций коров с лимфосаркомой, вызванной BLV. Было показано, что острая лимфоидная лейкемия чаще всего встречалась в возрасте от 20 и после 60 лет среди мужчин сельской местности, особенно в местах разведения молочного скота. Установлена сильная корреляция между частотой заболевания острой лимфоидной лейкемией людей и долей животных с лимфосаркомами, вызванными BLV [1]. По данным Oltenacu P.A. (2010) у людей, больных лейкозом, в ряде случаев удалось обнаружить провирус лейкоза КРС [9]. Также известно, что работники, контактирующие с инфицированным BLV мясом, в три раза больше рискуют заболеть миелоидной лейкемией, чем в группе сравнения. Выделение ДНК вируса в высокой концентрации в сыром молоке и из сырой говядины было продемонстрировано колумбийскими авторами (Olaya-Galan N. et al., 2017). Таким образом, основным путем передачи BLV человеку может считаться зоонозный - пищевой: через потребление в пищу молока и мяса коров, инфицированного данным вирусом [1, 15]. Также предполагается, что потенциальными путями передачи могут быть: воздушный и контактный. Показано, что риск заболеть раком легким значительно выше у работников мясоперерабатывающих производств, чем в контрольной группе [1]. Вирус содержится в слюне и других биологических жидкостях инфицированного животного, что представляет значительную опасность для работников животноводческих хозяйств как при уходе за животными, так и при проведении ветеринарно-зоотехнических мероприятий, в особенности - при искусственном осеменении. Показано, что при недостаточной обработке дезинфицирующими

средствами вирусные частицы остаются на пальпаторных руках при переносе эмбрионов и искусственном оплодотворении [22].

В рамках обеспечения биологической безопасности пищевой продукции в ряде стран введен серологический скрининг КРС на наличие антител к BLV. Исключением служат страны Средней Азии, США, где проблема ликвидации лейкоза среди скота мясных пород не стоит так остро из-за коротких сроков откорма и последующего убою животных. В странах, где лейкоз КРС широко распространен, применяются меры по обеспечению безопасности пищевых продуктов, полученных от КРС [23]. В целях предупреждения возможных негативных последствий действующими ветеринарно-санитарными требованиями установлены определенные ограничения в порядке использования молока и мяса от больных животных. Мясо от больного животного при генерализованном проявлении лейкоза повсеместно уничтожается. Во многих странах молоко, как сырьё животного производства, подвергается предварительной термообработке (Galstyan V. et al., 2015; Turovskaya E.F. et al., 2018) и обязательной пастеризации на производстве при различной температуре и времени выдержки (Donskaya G. et al., 2022; Veziryan V.A. et al., 2015). В России (в отличие от некоторых штатов США и ряда стран Евросоюза) запрещено производить продукты из сырого молока, оно подлежит обязательной пастеризации. Вирус лейкоза КРС неустойчив к воздействию высоких температур, и нагревание выше 60°C разрушает структуру вирусной частицы. В том числе молоко, полученное от инфицированных BLV восприимчивых животных (из установленного эпизоотического очага), также подвергается термической обработке путем прогревания при температуре не ниже 85°C в течение не менее 10 минут или кипячением в течение не менее 5 минут и используется внутри резервации или реализуется на молокоперерабатывающих предприятиях [24]. После обеззараживания молоко от инфицированных коров для людей считается безопасным. Следует отметить, что требования к использованию сырого молока претерпели значительные изменения в сторону послабления всего за несколько лет в связи с значительными экономическими потерями. Так, Решением Совета Евразийской экономической комиссии №115 от 8 августа 2019 г. были внесены изменения в ТР ТС 021/2011 "О безопасности пищевой продукции" [25]. Данный документ признает утратившим силу принятое в 2016 г. Приложение №5 (ТР ТС 021/2011) "Требования к переработанному продовольственному (пищевому) сырью животного происхождения", касающееся молока как сырья животного происхождения. Данное Приложение запрещало любое использование в переработке сырого молока из хозяйств, в которых в последние 12 месяцев были обнаружены животные с лейкозом КРС.

Вместе с тем, некоторыми исследователями было показано, что зараженные пищевые продукты не могут быть полностью очищены от вируса путем пастеризации или температурной обработки [3]. Кроме того, мясо и молоко, полученные от больных коров, содержат метаболиты триптофана, лизина и других циклических аминокислот, которые являются токсичными при накоплении в большом количестве и имеют выраженные канцерогенные свойства, и, следовательно, могут быть опасны для человека [26, 27].

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что BLV, являясь возбудителем лейкоза КРС, в процессе патогенеза вызывает дестабилизацию генома клетки и активацию *tax*-гена, обуславливая опухолевое перерождение клеточного генома. Указанные процессы характерны не только для клеток КРС, но и имеют место при взаимодействии данного вируса с клетками других видов животных, в том числе, предположительно, и человека [1]. Также BLV может быть обнаружен в здоровой ткани молочной железы человека (Juliana M. et al., 2007). В этих случаях вирус может находиться в латентном состоянии, не вызывая изменений в тканях, как это происходит с другими ретровирусами человека, такими как ВИЧ и HTLV-1, когда иммунная система, механизмы подавления рака, генетические и гормональные факторы хозяина могут сдерживать разви-

тие патологических процессов, несмотря на наличие BLV-инфекции. Вместе с тем, при контакте вируса с клетками человека (в культуре клеток) происходит дестабилизация генома с различными изменениями хромосом [18]. Это, в свою очередь, может являться причиной развития опухоли, т.е. трансформации клеток под действием вируса, будь то доброкачественные, предзлокачественные или злокачественные мутации. Так, BLV представляет собой реальный риск развития онкологических заболеваний человека. Особенно негативные последствия могут быть при рекомбинации BLV и HTLV, появление рекомбинантного вируса в естественных условиях может крайне негативно отразиться на эпидемиологической обстановке, поскольку такой вирус, вполне вероятно, сможет с одинаковой эффективностью поражать как КРС, так и человека [3].

Литература

- Хазипов Н.З., Вафин Р.Р., Шаева А.Ю., Зайнуллин Л.И. Трансформация клеток под воздействием вируса лейкоза крупного рогатого скота - реальный риск развития онкологических болезней человека. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; 6: 1-7.
- Абакин С.С., Суржикова Е.С., Оробец В.А. Оценка хозяйственно-полезных качеств коров молочных пород, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Ставропольского края. *Вестник АПК Ставрополя*. 2017; 1(25): 63-6.
- Климов Е.А., Косовский Г.Ю. К вопросу о возможности заражения человека вирусом лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринарная медицина*. 2012. 2: 9-10.
- Бахтаунов Ю.Х., Маманова С.Б., Бижанов А.Б. и Кутумбетов Л.Б., Каратаев Б.Ш., Карабасова А.С и др. Лейкоз крупного рогатого скота, основные направления его профилактики и оздоровления. Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки: сб. науч. тр. Алматы: ТОО "КазНИВИ", 2016. 43-53.
- Klener P., Szydal M., Cleuter Y., Merimi M., Duvillier H., Lallemand F. et al. Insights into gene expression changes impacting B-cell transformation: cross-species microarray analysis of bovine leukemia virus tax-responsive genes in ovine B cells. *J. Virol.* 2006; 80: 1922-38.
- Gillet N., Florin A., Boxus M., BurtEAU C., Nigro A., Vandermeers F. et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*, 2007; 4: 18.
- Якупов Т.Р., Хазипов Н.З., Коксин В.П. Изучение активности антител против ВЛКРС в иммунохимической реакции с антигенами ВИЧ. *Вятский медицинский вестник*. 2007; 4: 79-80.
- Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьёв Б.В., Фомина Н.В. Вирусные болезни животных. М.: ВНИТИБП, 2001. 928 с.
- Oltenu P.A., Broom D.M. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Univer. Fed. for Animal Welfare*. 2010. 19(1): 39-49.
- Гулюкин М.И., Иванова Л.А., Шишкина Е.А., Шишкин А.В., Прохватаева Л.Б. Экспериментальное заражение кроликов вирусом лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2008; 11: 23-7.
- Gao A., Kouznetsova V.L., Tsigelny I.F., Bovine leukemia virus relation to human breast cancer: Meta-analysis. *Microb. Pathog.* 2020; 149: 104417. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32731009/>
- Zhao T.M., Bryant M.A., Kindt T.J., Simpson R.M. Monoclonally integrated HTLV type 1 in epithelial cancers from rabbits infected with an HTLV type 1 molecular clone. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2002; 18(4): 253-8.
- Buehring G.C., Shen H.M., Jensen H.M., Jin D.L., Hudes M., Block G. Exposure to Bovine Leukemia Virus Is Associated with Breast Cancer: A Case-Control Study. *PLoS ONE*. 2015; 10(9): e0134304. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26332838/>
- Buehring G.C., Shen H., Schwartz D.A., Lawson J.S. Bovine leukemia virus linked to breast cancer in Australian women and identified before breast cancer development. *PLoS ONE*. 2017; 12(6): e0179367. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28640828/>
- Buehring, G.C., DeLaney, A., Shen, H., Chu D.L., Razavian N., Schwartz D. et al. Bovine leukemia virus discovered in human blood. *BMC Infect. Dis.* 2019; 19(1): 297. https://www.researchgate.net/publication/332156990_Bovine_Leukemia_virus_discovered_in_human_blood/citations#fullTextFileContent
- Buehring G.C., Shen H.M., Jensen H.M., Block G. Bovine leukemia virus infection is significantly associated with risk of breast cancer. *Proc. American Assoc. Cancer Res.* 2007; 48: 1747.
- Buehring G.C., Philpott S.M., Choi K.Y. Humans have antibodies reactive with Bovine leukemia virus. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2003; 19: 1105-13.
- Mesa G., Ulloa J.C., Uribe A.M., Gutierrez M.F. Bovine Leukemia Virus Gene Segment Detected in Human Breast Tissue. *Open J. of Med. Microb.* 2013; 3: 84-90.
- Zhang R., Jiang J., Sun W., Zhang J., Huang K., Gu X. et al. Lack of association between bovine leukemia virus and breast cancer in Chinese patients. *Breast Cancer Res.* 2016; 18: 101. doi.org/10.1186/s13058-016-0763-8.
- Rosewick N., Durkin K., Artesi M., Marçais A., Hahaut V., Griebel P. et al. Cis-perturbation of cancer drivers by the HTLV-1/BLV proviruses is an early determinant of leukemogenesis. *Nat. communications*. 2017; 8(1): 15264. <https://www.nature.com/articles/ncomms15264>
- Вангели С.В. Методы диагностики лейкоза крупного рогатого скота. *East Euro. Sci. J.* 2016; 8: 91-4.
- Meas S., Usui T., Ohashi K., Sugimoto C., Onuma M. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet. Microb.* 2002; 84(3): 275-82. doi: 10.1016/s0378-1135(01)00458-8.
- Лейкоз крупного рогатого скота //Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / под ред. Акад. РАН Д.К. Львова. М.: Мед. информ. аген, 2013; 869-73.
- Приказ Минсельхоза России от 24.03.2021 №156 "Об утверждении Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота".
- ТР ТС 021/2011 "О безопасности пищевой продукции"(с изменениями от 14.07.2021). Технический регламент Таможенного союза от 09.12.2011.
- Козырева Н.Г., Иванова Л.А., Степанова Т.В., Гулюкин М.И. Мониторинг эпизоотической ситуации и применение молекулярно-генетической диагностики в оздоровительных мероприятиях при лейкозе крупного рогатого скота. *Достижение науки и техники АПК*. 2014; 1: 47-51.
- Гулюкин М.И., Козырева Н.Г., Иванова Л.А., Степанова Т.В., Гулюкина И.А. Генетический полиморфизм вируса лейкоза крупного рогатого скота на территории Российской Федерации. *Рос. С.-х. наука*. 2016; 5: 56-9.



ДС-ИФА-АНТИ-BLV

ИННОВАЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ЛЕЙКОЗА КРС

- Одноэтапная тест-система, не требует подтверждения результата
- Выявление всех классов антител (IgG, IgM, IgA) к вирусу лейкоза КРС

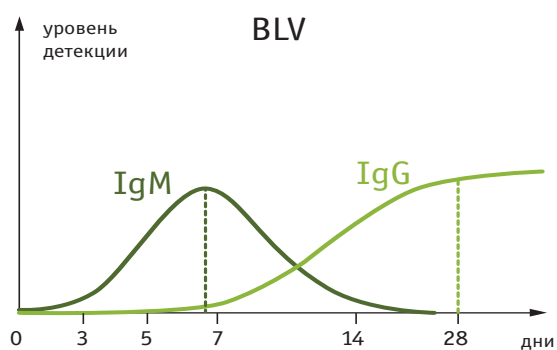


рис.1 Динамика антителообразования при BLV-инфекции

Специфические IgM обнаруживаются, начиная с 3 суток с момента инфицирования BLV, пик накопления на 5-7 суток. Специфические IgG обнаруживаются, начиная с 7-14 суток с момента инфицирования BLV, пик накопления на 28 суток. Определение IgM в сыворотке крови КРС является дополнительным инструментом для выявления животных на ранней стадии BLV-инфекции [6].

- Использование рекомбинантных антигенов - новый этап в развитии серодиагностики вируса лейкоза КРС

Тест-система «ДС-ИФА-АНТИ-BLV» разработана на основе двух рекомбинантных антигенов p24 и gp51 вируса лейкоза КРС. Использование рекомбинантных технологий позволяет обеспечить высокую специфичность тест-системы и стабильную межсерийную воспроизводимость.

gp51 + p24	Выявление BLV-инфекции на ранней стадии	+
	Выявление антител ко всем генотипам вируса	+
	Высокая достоверность теста	+

- Высокая чувствительность и специфичность

● Удобство и технологичность использования

- Цветовая кодировка реагентов
- Визуальный контроль внесения исследуемых и контрольных образцов - изменение цвета раствора при внесении образца в лунку иммуносорбента
- Объем образца сыворотки крови 50 мкл, молока 100 мкл - минимизирует погрешность внесения
- Набор укомплектован расходными материалами – наконечники, ванночки для приготовления жидких реагентов, защитные пленки для планшетов и др.
- ТМБ-Субстратный раствор – готов к применению
- Все инкубации при комнатной температуре – не требуется термостат/термошейкер



Исследуемый материал: сыворотка крови и молоко



Время инкубации - 2 ч 20 мин при комнатной температуре



Хранение набора реагентов при температуре 2°-8° С



Срок годности 18 месяцев

Надежность производителя

Цель компании ООО «НПО «Диагностические системы» – обеспечение Потребителей высококачественной продукцией!

ООО «НПО «Диагностические системы» – крупнейшее в России предприятие в области разработки, производства тест-систем для *in vitro* диагностики:

- российское производство с более чем 30-летней историей;
- современные стандарты производства;
- разработка и производство тест-систем базируется на новейших достижениях в области иммунохимии и генной инженерии;
- используется технология конструирования генов и получения на их основе рекомбинантных антигенов, аналогов иммунодоминантных вирусных и бактериальных белков;
- собственное производство обеспечивает бесперебойную поставку тест-систем, что важно в условиях импортозамещения;
- охватывает все регионы РФ;
- продукция компании поставляется в 300 городов России и экспортируется более чем в 50 стран мира.



Вопросы автоматизации лабораторных исследований

Линев А.А., Михайлова Ю.В., Обрядина А.П.

От пипетки Пастера до полной автоматизации лабораторных исследований

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Медицинская диагностика - это процесс определения причины болезни или состояния пациента, с использованием различных методов обследования и анализа [1]. С того момента, когда люди стали заниматься врачеванием, начался поиск способов определения/идентификации различных заболеваний, определения причин и, соответственно, возможностей лечения патологий - это были первые шаги в медицине, которые положили начало появлению "лабораторной диагностики".

Человечество с древних времён изучало болезни, пыталось их диагностировать и лечить. Месопотамия, Египет, Греция - очаги древней культуры и прогресса, которые стали родоначальниками современной медицины. Прежде всего древние диагносты опирались на собственную наблюдательность, а наиболее легкодоступным и единственным на протяжении нескольких веков субстратом для исследования с древних времен стала моча. Одна из самых ранних ссылок, касающихся диагностической ценности исследования мочи, найдена в древней санскритской литературе. Было замечено избирательное скопление муравьев и других насекомых в местах мочеиспускания определенных людей - это явление упоминалось в трактатах как "медовая" или "сахарная" моча. В последствии такая моча стала одним из признаков сахарного диабета у пациентов. Самая ранняя процедура, описанная в литературе, которую можно расценивать как первый диагностический тест, применялась для подтверждения беременности, и даже для определения пола плода. Около 1000 г. до н.э. египетские священники выливали мочу на смешанные семена злаков: если они проросли, то тест считался положительным, а вид проросших семян из этой смеси указывал на пол плода [2]. В высокоразвитой по тем временам системе традиционного врачевания Древней Индии большое значение имели свойства мочи: цвет и запах. Так, мутная моча свидетельствовала о патологии почек и мочевого пузыря, темно-коричневого цвета с зеленым оттенком наблюдалась при желтухе, темно-красный оттенок (похожий на мясные помои) указывал на наличие крови в моче, серовато-белый цвет - на присутствие в ней гноя. При наличии яда в крови моча приобретала цвет крепкого чая (при укусе змеи, скорпиона или отравлении) [3]. Кроме цвета и прозрачности определялся и запах мочи: "кислых яблок" (ацетона) - кето-

нурия; "гнилостный, не резкий запах" (фекалий) - поражение мочевыводящих путей кишечной палочкой; "разложение" (зловонный) - патологический канал между мочевыми путями и гнойными полостями и/или кишечником; "сырный", кислый запах (запах потных ног) - наследственное генетическое заболевание (изовалериановая ацидемия); мышиный (или затхлый) запах - нарушения обмена аминокислот (фенилкетонурия); сладкий, карамельный запах кленового сиропа - лейциноз, болезнь кленового сиропа; капустный запах (запах хмеля) - мальабсорбция метионина (болезнь хмелесушилки); запах гниющей рыбы - неспособность метаболизировать триметиламин (триметиламинурия); запах мочёных яблок (аммиака) - воспаление слизистых мочевого пузыря (цистит).

Уроскопия - исследование мочи с диагностической целью, вошло в практику еще со времен Гиппократ (460-370 гг. до н.э.). Вплоть до XVIII в. уроскопия оставалась преимущественно визуальной наукой, а оценка проводилась органолептическим методом. Например, в ряде трактатов того времени можно было встретить советы по диагностике и прогнозированию на основании мочи: "бесцветная моча - плохо; чаще всего она встречается у людей с болезнью мозга" и "наличие в моче пациентов с лихорадкой частиц, похожих на грубую муку, означает длительную болезнь" [4]. Такие показатели, как количество, запах, цвет, пенистость, прозрачность, определяют до сих пор. В Средние века сосуд для анализа мочи - матула - стал символом медицины. Тогда Матула постоянно совершенствовалась. Непрозрачные глиняные контейнеры заменили прозрачные сосуды из стекла, служившие для хорошей визуализации мочи. А форма с цилиндрической стала луковичной, имитируя мочевой пузырь и увеличивая площадь поверхности исследования, с широким горлышком для облегчения сбора мочи [5]. Начиная с XIII в. образец мочи стали рассматривать как делимую на четыре уровня жидкость. Каждый из уровней соответствовал различным частям тела: самый верхний - голова, следующий - грудь, третий - живот и самый нижний - органы мочеполовой системы (рис. 1) [6]. Так, на сосудах для мочи появились насечки, показывающие различные уровни, положив начало количественной оценке исследования.



Рис. 1. Сосуды, используемые для визуального исследования мочи уроскопистами [5]

Химический анализ мочи был предложен знаменитым швейцарским врачом Филиппом Ауреолом Теофрастом Бомбастом фон Гогенгеймом, известным миру под именем Парацельс (1493-1541 гг.). Это положило начало ятрохимической школе, а также завершило период ортодоксальной уроскопии. Только спустя столетие были достигнуты большие успехи с введением химии в диагностику. Так, в 1776 г. Добсон М. опубликовал статью "Эксперименты и наблюдения за мочой при диабете", где продемонстрировал, что сахар является ответственным за сладкий вкус мочи. Лэнгриш Б. (1735) в своей книге "Современная теория и практика физики" указывал, что "...пропорции нескольких основных компонентов крови и мочи, как в здоровом, так и в болезненном состоянии, будут очень полезны при выяснении причин возникновения заболеваний" [6]. Наряду с химическим исследованием мочи, благодаря изобретению микроскопа развивалась и микроскопия мочевого осадка. В то время микроскопы были с одной линзой, которые использовались ограниченной группой ученых, видевших в них новый и уникальный инструмент для исследования. В 1590 г. в Голландии мастер по изготовлению очков Ханс Янсен и его сын изобрели первый микроскоп, состоящий из 2-х линз, но разрешение этого инструмента было достаточно низким [7]. Только в конце XVI в. Гюйгенс К. (Голландия) изобрёл двухлинзовую систему окуляров, которая регулировалась ахроматически [8]. Например, благодаря микроскопическим исследованиям мочи была изучена природа материи, которая образует мочевые камни (де Пейреск Н.Ф., 1630).

Рутинным методом исследования инструментальная диагностика мочи стала уже в первой половине XIX в. благодаря практическому руководству по ней, составленному Рейером П. и Наполеоном Виглой Е. (Франция) [6]. К тому времени уже остро стоял вопрос о воспроизводимости проводимых экспериментов. Для того чтобы повторить опыт или анализ необходимо в точности соблюсти ряд условий: время, объём, температуру и т.д. Точность дозированного объёма удалось соблюдать с помощью градуированных мерных инструментов (пипеток, бюреток и ци-

линдров). Так, новый этап развития дозирующих инструментов начался в 1850 г. с изобретением и повсеместным применением в практической деятельности стеклянной пипетки с расширением в середине (Луи Пастер, Франция). Пипетка получила широкое распространение и была названа по имени её создателя "пипетка Пастера". Она позволила дозировать точные объёмы жидкости и значительно упростила проведение исследований в лаборатории. Изначально пипетка представляла собой полую трубочку с оттянутым носиком, позже появляются градуированные пипетки для точного дозирования (Мор К.Ф., середина XIX в.), а расширение в середине позволило увеличить объём забираемой жидкости (Пастер Л., 1950). Таким образом, в арсенале лаборантов того времени были приборы, позволяющие измерять объёмы, что способствовало стандартизации и воспроизводимости многие рутинные методики исследования биологических жидкостей человека.

Французский химик и физик Гей-Люссак Ж.Л. первым применил градуированные мерные сосуды для приливания стандартного раствора к титруемому. Он же ввел термин "бюретка" (от фран. *burette* - склянка) в 1824 г. Для титрования бюретку надо было наклонять, прижимая верхнее отверстие пальцем и регулируя плотность нажима, а затем приливать раствор через носик в титровальный стакан. Из-за наличия отводной трубки бюретка Гей-Люссака легко ломалась. Кроме того, ее сложно было градуировать. Необходимость управлять бюреткой с помощью подушечки пальца приводила к относительной грубости дозирования титровального раствора, что снижало точность анализа. Все это стало причиной того, что бюретка в таком виде просуществовала только около 30-ти лет. В 1840-ые гг. было сделано несколько попыток сконструировать бюретку со стеклянным или медным краном. Однако медь реагировала с аналитическими растворами, а стеклянные краны не удавалось сделать герметичными - бюретка подтекала. Кроме того, растворы щелочей быстро повреждали применявшееся для приборов стекло, и краны выходили из строя. В эти же годы немецкий химик и фармацевт Мор К.Ф., понимавший, насколько существенно для титриметрических методов точное измерение израсходованного объема, изобрел зажим, радикально изменил способ использования и форму бюретки, придав ей современный вид, а также придумал устройство для градуировки бюреток делениями по 0,1 мл. Он же изготовил и более надежный стеклянный кран. Несколько позже немецкий химик Бунзен Р.В. придумал остроумное и простое приспособление - затвор в виде шарика в резиновой трубке. Жидкость из бюретки с таким затвором вытекает при нажатии пальцами на верхнюю часть шарика. Бюретки с резиновой трубкой можно было применять для щелочных растворов. Однако резиновая трубка в начале и в конце выливания растягивалась в разной степени, что вносило дополнительную погрешность в измерение. Поэтому для точного анализа до сих пор используют бюретки со стеклянными кранами [9].

Помимо точности дозирования не менее важным параметром является соблюдение установленных интервалов реакции (времени реагирования). Часы являются не менее древним инструментом познания. От солнечных циферблатов до современных атомных часов прошёл долгий

и тернистый путь развития. Первые упоминания солнечных часов датируются 2000-ым г. до н.э. Но для повседневной жизни первоначально применялись песочные часы. По мнению некоторых историков, в Азии песочные часы применялись до Рождества Христова, а в Европе они были изобретены французским монахом Лиутпрандом только в VIII в. Время изобретения механических часов точно неизвестно. Существует версия, что их изобрел в конце X в. монах Герберт из Оверни, ставший впоследствии папой Римским Сильвестром II. В начале XVI в. немецкий механик Хенлейн П. заменил гиревой механизм пружинным и создал первые малогабаритные часы, которые можно было носить в кармане. Часы как мера времени стала более доступна исследователям [10].

Например, точность дозирования и время нашли свое отражение в появлении такого устройства как сифон-таймер, используемого для точного титрования химических реактивов. Изобретение было способно включаться и выключаться через регулярные промежутки времени. Устройство состояло из трубки, к которой присоединялся сифон. Внутри трубки находились электрические контакты, когда она заполнялась водой, контакты замыкались, и прибор включался. Постепенно вода заполняла сифон и уходила по нему в другую емкость, контакты открывались, прибор выключался. Длительность циклов можно было регулировать глубиной расположения контактов: чем они выше, тем цикл короче [11].

Появление и использование измерительных инструментов позволили воспроизводить многие эксперименты и сделать их рутинными анализами в клинической практике. К этому времени расширился спектр исследуемых субстратов. Несмотря на то, что анализ мочи хорошо себя зарекомендовал, он всё равно не отображал полной картины состояния больного, со временем учёные пришли к исследованию основной жидкости организма - крови. Первые скарификаторы, используемые для кровопускания, появились еще в начале XIX в. Подпружиненные лезвия этого прибора разрезали кожу, и на рану можно было наложить специальный округлый стеклянный стаканчик, который при нагревании помогал быстрее вытягивать кровь. Также их использовали для втирания в получившиеся ранки вакцины, например, от натуральной оспы. Со временем скарификаторы стали меньше и стали представлять собой пластинку с несколькими острыми зубцами, они использовались для сбора капиллярной крови в стеклянную пипетку. Кроме скарификаторов раньше для взятия крови использовались иглы Франка (по фамилии немецкого врача Франка К.Э.). Первую процедуру анализа крови в 1852 г. опубликовал Виерордт К. (Германия), она проводилась путем нанесения мазка на предметное стекло микроскопа и подсчета клеток после полного высыхания. В 1874 г. упростить микроскопический анализ клеток крови позволило изобретение устройства со счетной камерой - гемоцитометра (Малассез Л.-Ш.) [12]. В конце XIX в. Эрлих П. и Романовский Д.Л. разработали методы окрашивания белых и красных кровяных телец, которые до сих пор используются для исследования мазков крови [13]. Начиная с 1914 г. в отечественной медицине для подсчета клеток под

микроскопом в лабораторной практике стал использоваться специальный оптический прибор, предложенный русским врачом, именем которого он и был назван - камера Горяева. Она позволяла определить количество клеток в заданном микрообъеме жидкости и представляла собой толстое предметное стекло с прямоугольным углублением (камерой), на нее была нанесена микроскопическая сетка. Сверху камера Горяева накрывалась тонким покровным стеклом [14].

Микроскопия крови была не единственным диагностическим приемом, вместе с развитием биохимии и иммунологии появлялись новые методы. Толчком в развитии серологической диагностики послужило открытие преципитации: реакции образования комплекса антиген-антитело, которую можно учесть визуально. Феномен был изучен впервые в 1890 г. немецким врачом Берингом Э. (Польша) и японским врачом, микробиологом Китасато С. (Япония). Исследователями был представлен в свет совместный труд "О развитии иммунитета против дифтерии и столбняка у животных", в котором они показали способность иммунных сывороток нейтрализовать столбнячный и дифтерийный токсины [15]. В 1906 г. Вассерман А. совместно с Коллем В. (Германия) изобрели первое работающее лекарство против менингита, эффективность которого доходила до 100%. В тоже время ученый совершил свое главное открытие, вписав свое имя в историю медицины. Вассерман вместе с Нейссером А. и Бруком Ч. создали тест на сифилис, существование возбудителя которого в организме также было обнаружено путем исследования сыворотки крови. Реакция позволила выявлять также латентные, то есть скрытые формы сифилиса. Благодаря ранней диагностике удалось значительно снизить заболеваемость и распространенность инфекции. Это был первый нетрепонемный тест, названный реакцией Вассермана, основанный на реакции связывания комплемента. Открытие системы комплемента само по себе было важной вехой в развитии иммунологии, а разработка метода серодиагностики - реакции Вассермана - стала первой в ряду способов выявления инфекций по наличию антител в крови, она же положила начало экспресс-диагностике [16].

С усложнением методик проведения анализов требовалось учитывать все больше параметров реакции. Благодаря консолидации научного сообщества и обмену информацией между учёными разных стран в XX-ом в. началось время стремительных открытий и быстро развития инструментов для исследования.

Очередным по времени, но не последним по значимости методом стала спектрофотометрия - метод исследования растворов и твердых веществ, основанный на изучении спектров поглощения в ультрафиолетовой (200-400 нм), видимой (400-760 нм) и инфракрасной (>760 нм) областях спектра. Спектрометрия широко применялась в фармацевтических исследованиях, например, в изучении пенициллина и витаминов. Первый коммерческий спектрофотометр был изобретён Бекманом А.О. в 1941 г. и получил название "Beckman DU". Данный спектрофотометр мог работать как в видимой, так и в ультрафиолетовой части спектра (рис. 2) [17].

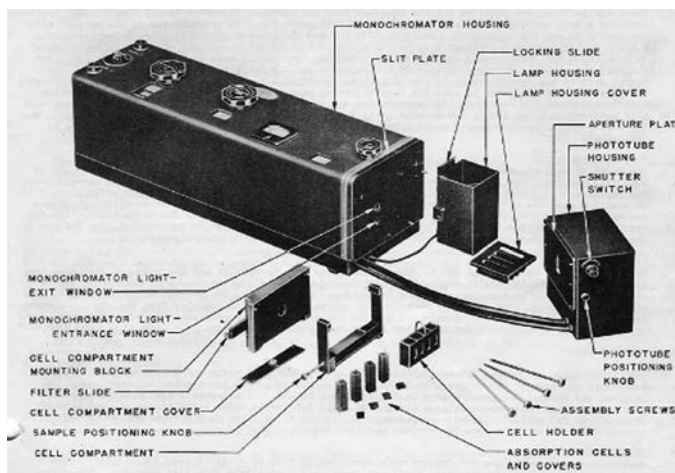


Рис. 2. Спектрофотометр "Beckman DU" [17]

До изобретения спектрофотометра набор оборудования для нахождения биомолекул и измерения их содержания обходился лабораториям в три тысячи долларов, в огромную сумму по тем временам. Нужно было проанализировать образец много раз при разных длинах волн, зафиксировать эти спектры на множестве фотопластинок и нанять специалиста, который мог сравнить эти спектры и проанализировать. Новый прибор сделал анализ сложных смесей точным и быстрым. То, что раньше требовало неделю, теперь занимало часы и минуты. Спектрофотометр стал одной из первых "черных коробочек" в лаборатории: исследователю не надо было разбираться в принципах механизма, он покупал прибор, ставил в него образцы, задавал нужные параметры и получал результат. Нобелевский лауреат Меррифилд Р. (США) назвал спектрофотометр, возможно, самым важным изобретением на пути развития биологической науки [18].

В 1956 г. появился первый автоматический биохимический анализатор "Technicon AutoAnalyzer" производства SEAL Analytical (рис. 3). Этот анализатор за две с половиной минуты измерял уровень мочевины, сахара и кальция в крови - основных веществ, по которым судили о наличии диабета, почечной недостаточности и других заболеваний [19].



Рис. 3. Анализатор "Technicon AutoAnalyzer" [20]

Биологическая наука тоже не стояла на месте и следующим очень важным шагом становления иммунологической диагностики стала разработка методики пришивания ферментов к антителам, предложенная в 1966-1969 гг. Аврамисом С. (Франция). Являясь мощными химическими катализаторами, ферменты способны эффективно осуществлять наработку легко детектируемого продукта, что

делает возможным определение ферментной метки в весьма малых концентрациях. Именно применение ферментов в качестве меток позволило в разы увеличить чувствительность используемых методик [21].

Перспективными направлениями развития стали люминесцентные способы детекции ферментативных реакций, а также методы, основанные на ферментативном усилении детекции продуктов первичной ферментативной реакции ("каскады"). Для ферментативной метки могут быть применены разнообразные ферменты: пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза, глюкозооксидаза и др. В качестве субстратного реагента также применяются разнообразные хромогенные вещества, продукты окисления которых и регистрируются фотометрически при определенных длинах волн (волновой диапазон 340-750 нм).

Разработка ИФА стала важной вехой в развитии лабораторной диагностики. С этого момента диагностика заболеваний выходит на новый уровень, метод ИФА позволил относительно просто и надёжно конструировать тест-системы для поиска разных аналитов в любом биологическом материале. Использование твердой фазы упростило процесс разделения компонентов реакции за счет иммобилизации одного из компонентов на твердой фазе и удаления субстанций, не участвующих в реакции. Основными требованиями, предъявляемыми к твердой фазе при проведении ИФА, стали устойчивость к растворам, используемым в реакции, и высокая специфическая емкость (т.е. способность сорбировать на своей поверхности антитела или антигены в количествах, необходимых для проведения реакции, и в сочетании с как можно меньшей неспецифической сорбцией белков из исследуемых образцов и конъюгатов). Широкое использование стандартной конфигурации 96-луночного планшета позволило унифицировать данный этап анализа. Стандартизация микропланшетов и растущий спрос на инструменты для проведения ИФА побудил руководство компании Lab Systems (сегодня Thermo Fisher Scientific) в 1976 г. преобразовать первые считыватели микропланшетов в фотометр "Multiskan" [11]. Это была наиболее ранняя версия считывателя 96-ти луночного микропланшета.

В 1981 г. была основана компания Zymark Corporation, которая выпустила автоматическую лабораторную систему Zymate (Zymate Laboratory Automation System) (рис. 4.)

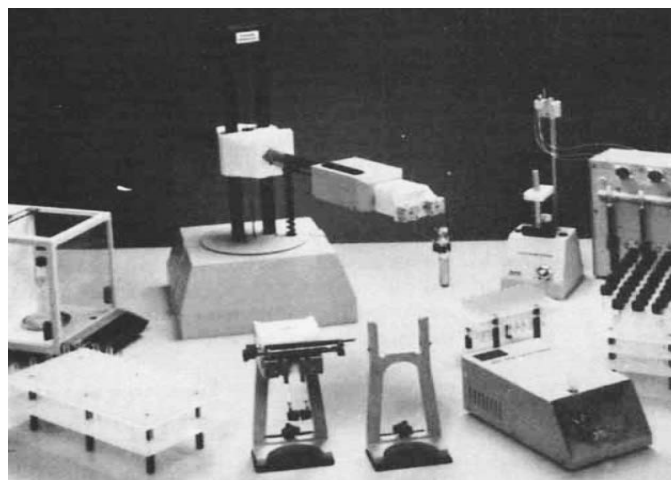


Рис. 4. Автоматическая лабораторная система Zymate [25]

Это была единственная на тот момент система, специально разработанная для химических и биотехнологических лабораторий. Ее центральным звеном был Zymate Robot - манипулятор под контролем микропроцессора, который крутился; двигался по горизонтали/вертикали; мог поднимать/перемещать пробирки, мерные стаканы и колбы; переливать жидкости из одной емкости в другую и, главное, быстро передвигаться между несколькими лабораторными станциями, расставленными вокруг него. Аппарат мог совершать лабораторные манипуляции, получать данные и проверять их по заданному критерию качества, при необходимости перепроверять образцы, ставить стандарты и контроли или менять процедуру, пока не будет получен достоверный результат [25]. Следующим шагом в автоматизации лаборатории стала станция "Biomek 1000" (1986) с возможностью интеграции до 4-х различных устройств. Ее совместное использование с вошером, шейкером-инкубатором и фотометром позволяло полностью автоматизировать проведение ИФА. В этом же году компания "Wallac" (сегодня "PerkinElmer") разработала первый автоматизированный прибор для обчёта оптической плотности на основе микропланшетов - "Wallac Betaplate". Следующая веха автоматизации произошла в 1990 г., когда Эстл Т. из компании ТомТес для удовлетворения потребностей лабораторий по разработке лекарств, добавил функции аспирации и автоматического внесения жидкости, модернизировав распространенный тогда полуавтомат "Wallac Betaplate". В результате было создано производство автоматических станций для работы с жидкостями "Harvestor2" и "Quadra 3" (рис 5).



Рис. 5. "Quadra 3" [26]

В 1994 г. выходит вторая версия станции "Biomek 2000", которая задаёт стандарты и решения автоматизации на долгие годы вперед (рис 6.). Управление и программирование устройства в простом и удобном графическом интерфейсе, который был революционным на то время. Более того, даже сейчас подобным функционалом могут похвастаться не все производители систем автоматизированного дозирования [26].



Рис. 6. "Biomek 2000" [26]

Основные вехи истории становления технической базы для диагностических исследований, ставшей основой для возникновения современного высокопроизводительного оборудования представлены на рисунке 7.

Серологическая диагностика, в том числе и с использованием ИФА, не теряет своей актуальности и сегодня. Основным преимуществом метода является простота выполнения анализа, который можно осуществить буквально "на коленке", при широком спектре исследуемых с его помощью анализов. Простота конструирования тест-систем в данном формате позволяет оперативно реагировать на быстро меняющуюся эпидемиологическую ситуацию, примером которой послужила недавняя пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), когда эффективным способом профилактики COVID-19 для большинства людей стала вакцинация, а тесты ИФА стали основным методом оценки иммунного статуса [27]. Именно в этот период особую актуальность имела оценка уровня постинфекционного и поствакцинального иммунитета, основанная на качественном и количественном определении специфических антител с помощью ИФА-тестов. Применение дополнительного оборудования на разных этапах развития лабораторной диагностики позволило значительно сократить время на проведение анализа, уменьшить возможное влияние человеческого фактора, повысить стандартизацию. В дальнейшем, повышение эффективности деятельности иммунологической лаборатории шло по пути совершенствования технологических решений, который привел к созданию полностью автоматизированных комплексов, способных выполнять все этапы проведения анализа без участия оператора. За 19 лет технологического совершенствования подобное оборудование вышло на совершенно новый уровень: количество инкубаторов на борту современных анализаторов может достигать двенадцати; вошеры для промывки микропланшетов имеют до 96-ти каналов; дозирующие модули с двумя, четырьмя и восьмью каналами.

Высокоэффективная автоматизация надежной методики - гарантия получения достоверных результатов в минимальные сроки.

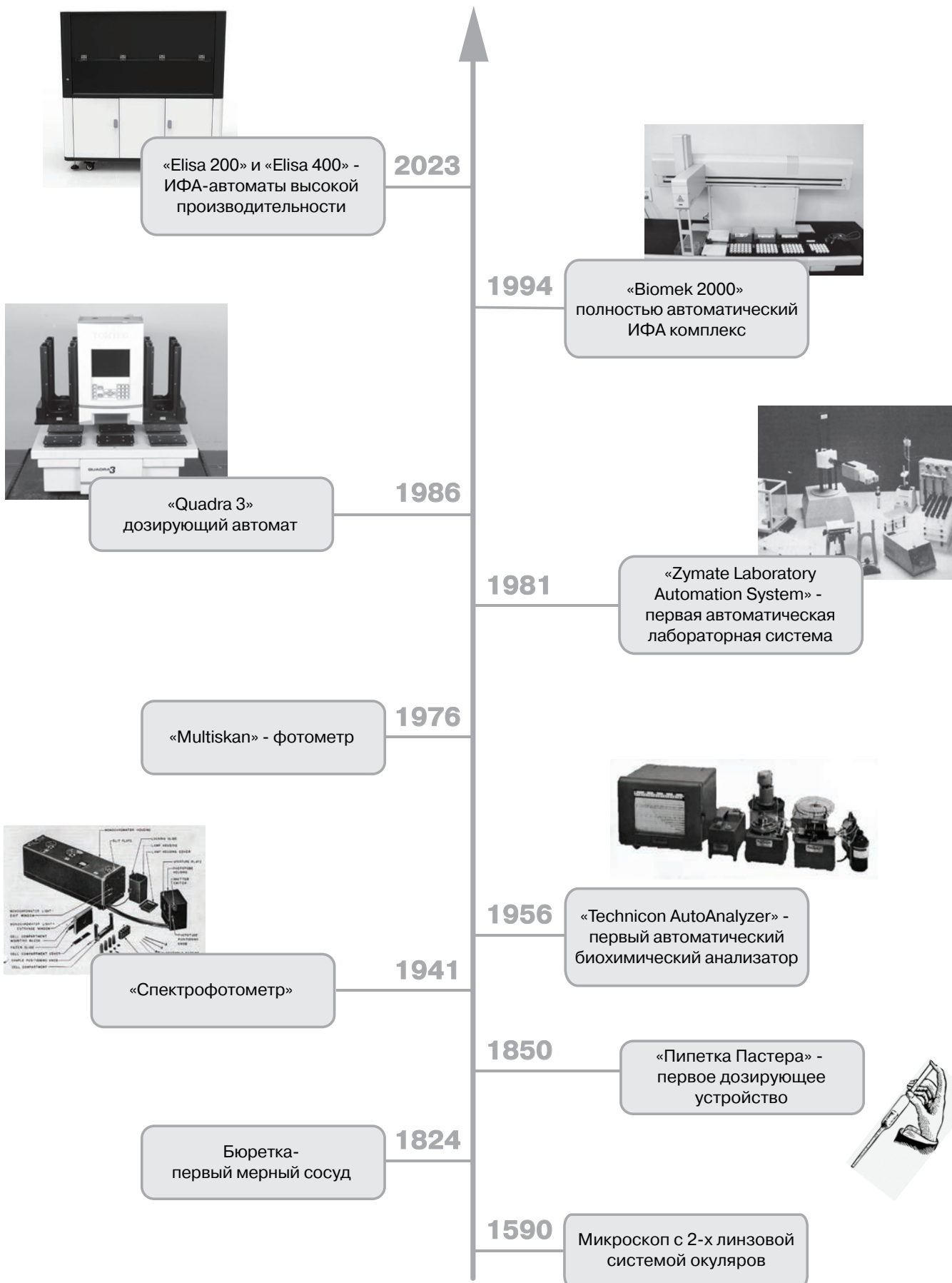


Рис. 7. История становления технической базы для диагностических исследований

Литература

1. Большая российская энциклопедия: [в 35 т.] / под. ред. Ю.С. Осипова. М.: Большая российская энциклопедия, 2004-2017.
2. Lines J.G. A chronicle of the development of clinical chemistry. *IFCC Newsletter*. 1977; 18: 3-9.
3. Симонян Е.Э., Макулин А.В. Ветеринарная медицина. *Научные исследования*. 2016; 10(11): 96-100.
4. Захарова И.Н., Османов И.М., Мачнева Е.Б., Мумладзе Э.Б., Гавеля Н.В., Бражникова О.В. и др. Клинический анализ мочи: историческое значение для развития медицины. *Педиатрия. Consilium Medicum*. 2019; 1: 83-8.
5. Eknoyan G. Looking at the urine: the renaissance of an unbroken tradition. *Am. J. Kidney Dis*. 2007; 49 (6): 865-72.
6. Keele K.D. The quest for significant physical signs. The evolution of clinical methods in medicine. *Part II. London: Pitman Medical Publishing*. 1961; 21-49.
7. Chodos A., Ouellette J. Lens Crafters Circa 1590: Invention of the Microscope. *APS News*. 2004; 13(3). <https://www.aps.org/publications/apsnews/200403/history.cfm>.
8. Ласерна Д.Б. В погоне за лучом. Гюйгенс. Волновая теория света. Наука. Величайшие теории. М.: Де Агостини, 2015. 38.
9. Становление химии как науки. Всеобщая история химии / под ред. Ю. Соловьева. М.: Наука, 1983. 463 с.
10. Михаль С. Часы. От гномона до атомных часов / под ред. В.А. Шполянского. Сокр. пер. с чеш. Мельнера Р.Е. М.: Знание, 1983. 256 с.
11. Buie J. Evolution of Microplate Technology. *The Online Lab manager*. 2010; 5(1). <https://www.labmanager.com/evolution-of-microplate-technology-19972>.
12. Roguin A. Scipione Riva-Rocci and the men behind the mercury sphygmomanometer. *Int. J. Clin. Pract*. 2006; 60(1): 73-9.
13. Засухин Д.Н. Д.Л. Романовский (80 лет метода окраски крови и паразитов крови). *Мед. Паразит. и паразит. бол.* 1971; 40(6): 729.
14. Камера Горяева. Википедия - электронная энциклопедия. https://ru.wikipedia.org/wiki/Камера_Горяева.
15. Паевский А. Первый "Медицинский нобель". 2014. <https://biomolecula.ru/articles/pervyi-meditsinskii-nobel>.
16. Флек Л. Возникновение и развитие научного факта: введение в теорию стиля мышления и мыслительного коллектива. М.: Идея-Пресс, Дом интеллектуальной книги, 1999. 220 с.
17. Simoni R.D., Hill R.L., Vaughan M., Tabor H. A classic instrument: the beckman DU spectrophotometer and its inventor. *J. Biol. Chem*. 2003, 49: e1. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(20\)75750-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)75750-9).
18. Thackray A. and Myers M. Arnold O. Beckman. One hundred years of excellence. Chemical Heritage Foundation, 2000. 379.
19. Olsen K. The First 110 Years of Laboratory Automation: Technologies, Applications, and the Creative Scientist. *J. of Lab. Auto*. 2012; 17(6): 469-80.
20. Staden J. Analytical continuous flow system. Where two worlds collide! From gravimetry and test tubes to flow systems to FIA to PAT and from orsat to control room to PAT to TAP. *Rev. Roum. Chim*. 2015; 60(5-6): 403-14.
21. Wicker R., Avrameas S. Localization of Virus Antigens by Enzyme-labelled Antibodies. *J. of Gen. Virol*. 1969; 4: 465-71. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-4-4-465>.
22. Engvall E., Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochem*. 1971; 8: 871-4.
23. Van Weemen B.K., Schuur A.H.W.M. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. *FEBS Lett*. 1971; 15(3): 232-6.
24. Peter B. The Microplate Market Past, Present and Future, Drug discovery world. 2019. <https://www.ddw-online.com/enabling-technologies/p92824-the-microplate-market-pastpresent-and-future.html>.
25. Little J. The Zymate Laboratory Automation Systems. *J. of Liq. Chroma*. 1986; 9: 3197-201.
26. Felder R. Clinical laboratory robotics in the 1990s. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 1992; 17: 111-8.
27. Бугоркова С.А. 2020. Некоторые аспекты формирования иммунного ответа у пациентов с COVID-19. COVID 19 - PREPRINTS. MICROBE.RU. <https://doi.org/10.21055/preprints-3111717>.

Линев А.А.

Особенности внедрения автоматизации иммунологических исследований

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Существует ряд важных аспектов автоматизации лабораторных исследований, ограничивающих быстрый переход от ручного труда к автоматическому, которые необходимо учитывать.

Во-первых, применение сложного оборудования подразумевает точное выполнение инструкций и следование стандартным операционным процедурам (СОПам). Неправильное выполнение данных требований или их игнорирование делает использование автоматического оборудования невозможным. Напомним, что стандартная процедура проведения лабораторного тестирования включает в себя следующие этапы: преаналитический, аналитический и постаналитический. Ошибки могут возникать на любом из этих этапов.

- Преаналитический этап: пробоподготовка. Так, на данном этапе могут быть следующие ошибки: отбор сыворотки крови у обследуемых лиц производится в количестве, несоответствующем рекомендованной отметке (указанной на вакутайнере); клинический материал не подвергается предварительному центрифугированию, что, в свою очередь, приводит к образованию лентовидных и диагональных сгустков, так называемых "медуз" в образцах сыворотки крови. Ошибки пробоподготовки негативно сказываются на процедуре автоматизированного отбора клинического материала из образцов пациентов и, как следствие, к дозированию неправильного объема.

- Аналитический этап: постановка анализа. Ошибки при предварительном разведении реагентов, несоблюдение временного и температурного режимов хранения готовых реагентов.

- Постаналитический этап: получение и выдача результата. Лабораторная информационная система (ЛИС)

призвана облегчить ведение пробы от сбора крови до получения результата всех назначенных тестов. Часто встречаются разрывы в этой цепи, где происходит ручной перенос данных, что замедляет передачу данных в ЛИС и может приводить к возникновению ошибок.

Во-вторых, отдельно можно выделить ограничения на этапе обучения персонала работе на автоматических анализаторах. Современное оборудование требует другого подхода к работе, а также получения новых умений и знаний. Необходимо обучение сотрудников, что часто вызывает трудности в лаборатории, где годами складывались традиционные схемы и принципы работы.

В-третьих, при интеграции нового оборудования в рабочий процесс необходимо учитывать направленность деятельности лаборатории и количество анализируемых образцов от пациентов в день. Так, по потокам проводимых исследований лаборатории можно разделить на:

- "скрининговые" с узким перечнем тестов, проводимым для большого количества пациентов, и
- "клинические" с широким спектром искомых аналитов для отдельных пациентов.

Вместе с тем, данное деление условно, поскольку в лаборатории в первой половине дня может проводиться скрининг, а во второй - клинические исследования. В зависимости от количества образцов пациентов, анализируемых в день, меняется объем проводимых исследований. Например, небольшой поток проводимых исследований в лаборатории может становиться средним или даже высоким в период возникновения необходимости проведения срочных анализов (медосмотров и пр.). Данный аспект нужно учитывать при поиске решений автоматизации и оптимизации работы лаборатории (рис. 1.).



Рис. 1. Варианты направленности деятельности лаборатории

В зависимости от вышеописанного, оптимальным решением для каждой конкретной лаборатории может быть, как частичная, так и полная автоматизация работы.

В свою очередь, выбранный вариант будет определять подход к процессу модернизации и необходимое для его осуществления оборудование (рис. 2).

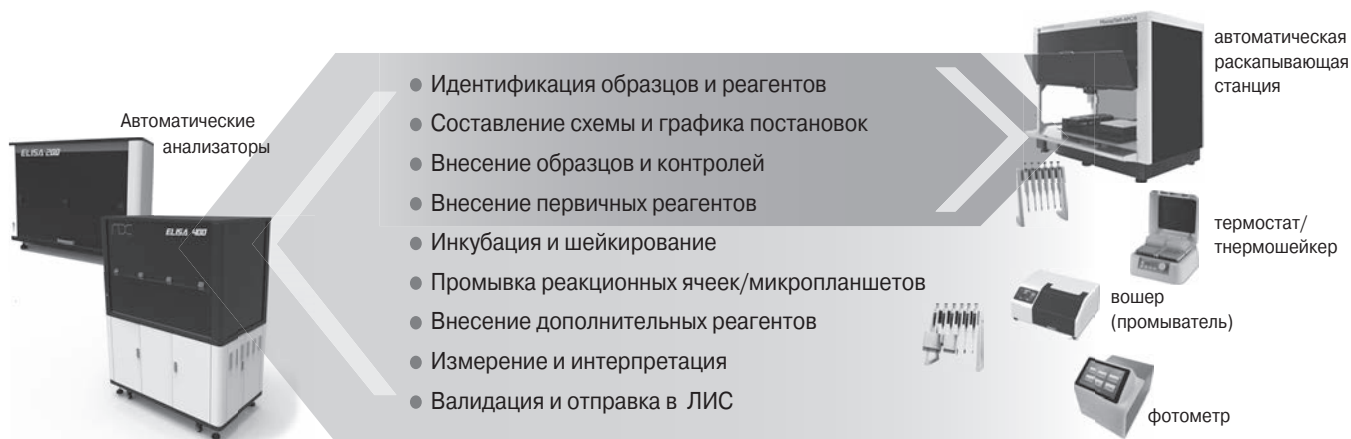


Рис. 2. Варианты автоматизации и необходимое оборудование

- При частичной автоматизации работы процессу модернизации подвергаются отдельные этапы проведения исследований: процесс раскапывания образцов и реагентов, и/или инкубации, и/или отмывки планшета, и/или получения и учета результата. За последние два столетия многоканальные автоматические дозаторы пришли на смену стеклянным пипеткам Луи Пастера. Термостатируемые шейкеры на смену шкафу-термостату. Современные вошеры выполняют отмывку планшета по заданной программе; а фотометры не только измеряют оптическую плотность, но самостоятельно проводят вычисления и обработку полученных данных.

- При полной автоматизации иммунологических исследований все этапы проведения анализа выполняются автономно без привлечения оператора и требуют установки анализатора полного цикла. Такие приборы могут считывать штрихкодированные пробирки с внесенными в ЛИС назначениями анализов пациентов, делать предварительное разведение образцов (при необходимости), вносить клинический материал и необходимые реагенты в рабочий планшет, выполнять инкубации, промывки, учитывать результаты и отправлять данные в ЛИС. Внедрение полной автоматизации ускоряет процесс получения конечного результата анализа врачом-клиницистом.

Современные анализаторы полного цикла отличаются по ряду ключевых параметров:

1. Система дозирования жидкости. Она бывает одноканальная, двухканальная, четырёхканальная и восьмиканальная, используется для внесения образцов и реагентов. Чем больше каналов, тем выше скорость внесения образцов и реагентов. При этом, увеличение количества каналов ведет к повышению стоимости самого анализатора и усложняет его техническое обслуживание.

2. Многоцветные иглы или сменные наконечники. Анализаторы, оборудованные иглами для внесения образцов и реагентов, не требуют расходных материалов, но применение многоцветных игл для внесения пациентов не исключает возможность контаминации. Также не стоит забы-

вать, что иглы в процессе работы после каждого внесения образцов и реагентов, промываются агрессивными дезинфектантами. Это со временем приводит к разрушению и деградации поверхности иглы, а в дальнейшем потребует замены иглы при техническом обслуживании (ТО). Применение одноразовых наконечников способствует исключению контаминации и увеличению надёжности по сравнению с многоцветными иглами (в случае внешней ситуации повреждение иглы повлечёт за собой её замену, повреждение наконечника - его смену с продолжением работы в штатном режиме). Существуют приборы, применяющие обе схемы работы: реагенты, вносятся иглой, образцы - наконечниками. Применение многоцветных игл не является экономически выгодным по сравнению с использованием одноразовых наконечников, поскольку стоимость замены иглы на ТО (в среднем раз в полгода) сопоставима с затратами на закупку наконечников на этот период.

3. Инкубаторы. Существует расхожее мнение: чем больше инкубаторов, тем лучше для работы. Вместе с тем, следует обращать внимание не только на количество инкубаторов в приборе, но и на конструктивные особенности анализаторов. Важной характеристикой является независимость работы инкубаторов. Так, существуют варианты оборудования (например, анализатор DYNEX DS2), в котором все инкубаторы могут поддерживать только единую температуру и общий режим шейкирования. Такие приборы не позволяют одновременно ставить тесты, имеющие разные режимы инкубации. Большинство современных анализаторов обладают независимыми инкубаторами, позволяющими проводить несколько вариантов исследований с разными режимами термостатирования по числу инкубаторов в приборе.

4. Вошеры. До недавнего времени вошеры стандартно имели по 8 наливных и аспирационных игл. Современные вошеры имеют по 16 (промывают сразу 2 стрипа) и 96 игл (промывают целый планшет за один шаг), сокращая время промывки планшета в десятки раз.

5. "Транспорт" планшета. Эффективность работы транспорта во многом зависит от конструктивных решений того или иного производителя оборудования. Например, если зона раскапывания и зона инкубации разделена в пространстве, то планшеты необходимо перемещать после каждой процедуры раскапывания, что влечёт за собой необходимость планировать перемещения планшетов независимо друг от друга. Также существуют аппараты, в которых позиция раскапывания и инкубации совмещена, при такой компоновке планшеты перемещаются только для промывки и фотометрии, что позволяет значительно сократить время постановки анализа в целом.

Таким образом, эффективность работы приборов напрямую зависит от рационального распределения модулей, их числа и оптимального взаимодействия. Далеко не всегда увеличение количества модулей способствует повышению пропускной способности анализатора, зачастую эргономически правильно реализованное решение позволяет прибору работать гораздо эффективнее даже при на-

личии небольшого количества модулей. Например, пропускную способность анализатора можно повысить за счет расположения всех планшетов в зоне раскапывания (возможность одновременного внесения образца для нескольких тестов одним наконечником), увеличения количества каналов дозирования и каналов промывающего модуля, в следствии чего минимизируется необходимость "транспорта" планшета в рабочей зоне прибора и сокращается время проведения анализа.

Медицинская диагностика прошла долгий путь развития, начиная с древних цивилизаций и до наших дней. Объединение методов диагностики с возможностью автоматизации лабораторных процессов позволило вывести исследования в области определения иммунологических маркеров различных заболеваний на новый уровень. Современные технологии позволяют получать более точные и быстрые результаты для дифференциальной диагностики заболеваний.

Вариантов технических решений автоматизации иммунологических исследований в настоящее время существует много. Компания ООО "НПО "Диагностические системы" предлагает варианты оптимизации процесса автоматизации работы в лаборатории с применением раскапывающей станции "МилаЛаб-APC_8", полуавтоматических приборов и анализаторами полного цикла "Gemini". Использование "МилаЛаб-APC_8" на этапе дозирования/внесения (предварительного разведения) образцов клинического материала и реагентов позволяет за временной промежуток около 15 минут подготовить четыре планшета на разные тесты для проведения последующих этапов анализов. Упростить работу оператора дает возможность интеграции раскапывающей станции в ЛИС для автоматического получения информации по назначенным исследованиям на каждого конкретного пациента.

Важным моментом на данном этапе выполнения исследований является возможность постановки нескольких разных тестов на одном планшете при совпадении методик проведения этих анализов. Это является особенно актуальным при небольшом количестве обследуемых лиц с широким спектром исследуемых аналитов (например, при постановке комплекса ToRCH).

Остальные этапы анализа могут быть проведены:

- в "полуавтоматическом режиме" с использованием вошеров, шейкеров, ридеров для отдельных процедур выполнения тестов (вариант 1);
- с помощью автоматического анализатора - Gemini (вариант 2).

Преимущество использования последнего заключается в автоматическом продолжении процедур проведения анализа, экономии времени оператора, а также использовании возможности постановки тестов при разных вариантах инкубации с последующим автоматической загрузкой результатов в ЛИС.

Все вышеописанные варианты представлены на рисунке ниже.

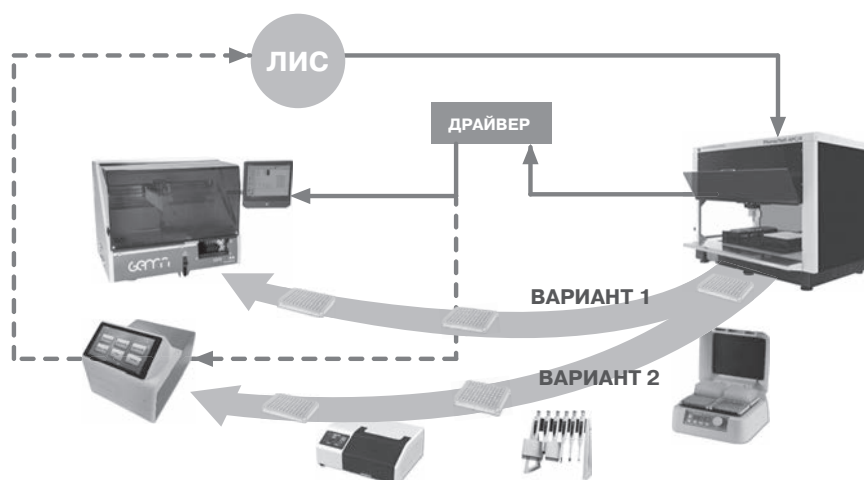


Рис. Варианты технических решений для автоматизации ИФА-исследований на примере ToRCH - инфекций*

* Примечание: например, внедрение раскапывающей станции позволяет обработать 44 образца/352 теста на 8 маркеров ToRCH-инфекций за 18 минут

Нормативные документы

Лабораторная диагностика некоторых инфекционных болезней (за период 2021-2023 гг.)

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
<p align="center">Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 №4 "Об утверждении СП и норм СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" (ред. от 25.05.2022)*</p>		
<p align="center">VI. Профилактика ВИЧ-инфекции</p>		
	Выявление, учет и регистрация	<p>600. Основным методом выявления является проведение обследования на антитела к вирусам иммунодефицита человека (анти-ВИЧ) и антиген p24. Присутствие специфических маркеров ВИЧ-инфекции (анти-ВИЧ, антигена p24, РНК или ДНК ВИЧ) является лабораторным доказательством наличия ВИЧ-инфекции.</p> <p>602, 603. Контингенты населения, подлежащие медицинскому освидетельствованию и добровольному обследованию для раннего выявления ВИЧ-инфекции указаны в разделах I и II Приложения 13 к данным Санитарным правилам.</p>
1	Лабораторная диагностика	<p>618. Лабораторная диагностика основана на выявлении анти-ВИЧ и вирусных антигенов или выявлении провирусной ДНК и вирусной РНК ВИЧ.</p> <p>619. Стандартным методом лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции служит определение антител и антигена ВИЧ с помощью диагностических тестов, одновременно выявляющих анти-ВИЧ-1,2 и антиген p24. Для подтверждения результатов в отношении ВИЧ применяются подтверждающие тесты (иммунный, линейный блот и определение РНК/ДНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами).</p> <p>620. При необходимости обследования могут использоваться простые/быстрые тесты для обследования на ВИЧ.</p> <p>622. В случае получения положительного результата в диагностических скрининговых тестах анализ проводится последовательно еще 2 раза (с той же сывороткой и в той же тест-системе). Если получены два положительных результата из трех постановок, сыворотка считается первично-положительной и направляется в референс-лабораторию.</p> <p>В целях сокращения сроков тестирования в референс-лабораторию направляется сыворотка, позитивная в одной постановке, без повторных исследований.</p> <p>623. На втором этапе анализа первично положительная сыворотка повторно исследуется в диагностических тестах, одновременно выявляющих анти-ВИЧ-1,2 и антиген p24, во второй тест-системе другого производителя, отличающейся от первой по составу антигенов, антител или формату тестов. При получении отрицательного результата сыворотка повторно исследуется в третьей тест-системе, отличающейся от первой и второй по составу антигенов, антител или формату тестов. В случае получения отрицательного результата (во второй и третьей тест-системах) выдается заключение об отсутствии антител/антигенов ВИЧ. При получении положительного результата (во второй и (или) третьей тест-системе) сыворотку необходимо исследовать в иммунном или линейном блоте. При необходимости незамедлительного назначения антиретровирусной терапии пациенту вместо иммунного или линейного блота может быть проведено определение РНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами.</p> <p>624. Положительными (позитивными) считаются пробы, в которых в иммунном или линейном блоте обнаруживаются антитела как минимум к двум из трех гликопротеинов ВИЧ (<i>env</i>) или выявлена РНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами.</p> <p>625. Отрицательными (негативными) считаются сыворотки, в которых не обнаруживаются маркеры ВИЧ-инфекции (антитела, антигены, ДНК/РНК ВИЧ).</p> <p>626. Неопределенными (сомнительными) считаются сыворотки с белковым профилем в иммунном блоте, не отвечающим критериям позитивности. При получении неопределенного результата с белковым профилем, включающим белки сердцевин (<i>gag</i>), p24, проводится исследование для диагностики ВИЧ-2 и определение ДНК/РНК ВИЧ молекулярно-биологическими методами.</p> <p>628. Повторные обследования методом иммунного блота у лиц с установленным ранее диагнозом "ВИЧ-инфекция" не проводятся.</p> <p>631. Для диагностики ВИЧ-инфекции у детей в возрасте до 18 месяцев, рожденных ВИЧ-инфицированными матерями, в связи с наличием материнских антител применяются методы, направленные на выявление генетического материала ВИЧ (ДНК или РНК).</p> <p>634. Каждое исследование на ВИЧ с применением простых/быстрых тестов должно сопровождаться исследованием крови стандартными методами исследования на анти-ВИЧ-1,2 и антиген p24 или направлением пациента на обследование стандартными методами.</p> <p>635. Выдача заключения о наличии или отсутствии ВИЧ-инфекции только по результатам простого (быстрого) теста не допускается.</p>

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
1	Организация и проведение санитарно-противоэпидемических мероприятий при ВИЧ-инфекции. Мероприятия в эпидемическом очаге	637. Мероприятия в отношении механизмов, путей и факторов передачи включают, кроме прочего, обследование доноров крови и любых других донорских материалов на наличие антител, антигенов, РНК/ДНК ВИЧ при каждой сдаче донорского материала. 648. При исследовании образца крови донора проводится одновременное определение наличия анти-ВИЧ-1,2 и антигена ВИЧ p24. Молекулярно-биологические исследования (полимеразная цепная реакция - ПЦР) проводятся для серонегативных образцов или для всех образцов крови донора параллельно с обязательными иммунологическими исследованиями.
VII. Профилактика вирусных гепатитов В и С (ГВ, ГС)		
2	Выявление, учет и регистрация больных	712. Методом выявления источников ГВ и ГС является обследование (на поверхностный антиген вируса ГВ (ВГВ) - HBsAg и наличие антител к вирусу ГС (ВГС) - анти-ВГС) контингентов с высоким риском заражения, которые описаны в Приложениях 16-18 к данным Санитарным правилам.
	Лабораторная диагностика	715. Лабораторная диагностика ГВ и ГС проводится иммунохимическим и молекулярно-биологическим методами исследования. 716. Лица, у которых впервые выявлен HBsAg или ДНК ВГВ, должны быть обследованы на наличие антител к вирусу гепатита D (анти-ВГD) иммуноглобулинов класса G (IgG). 717. У лиц с иммунодефицитом диагностика ГС проводится с помощью одновременного выявления анти-ВГС и РНК ВГС. 719. Лица, у которых выявлены анти-ВГС, подлежат обследованию на наличие РНК ВГС или капсидного антигена (<i>core Ag</i>) ВГС (с использованием диагностического набора реагентов, позволяющего выявлять <i>core Ag</i> ВГС в концентрации, эквивалентной 3000 МЕ/мл РНК ВГС и менее). 721. Диагноз острого ГС или хронического ГС подтверждается только при выявлении в сыворотке (плазме) крови РНК ВГС или <i>core Ag</i> ВГС с учетом данных эпидемиологического анамнеза и результатов клинико-лабораторных исследований (активность аланаминотрансферазы, концентрация билирубина, определение размеров печени и других). 723. Лица с анти-ВГС в сыворотке (плазме) крови при отсутствии у них РНК ВГС или <i>core Ag</i> ВГС подлежат повторному обследованию на наличие анти-ВГС и РНК ВГС через 6 месяцев. 724. Диагностика ГС у детей в возрасте до 12 месяцев, рожденных от инфицированных ВГС матерей, проводится в соответствии с настоящими Санитарными правилами. 725. Экспресс-тесты, основанные на определении анти-ВГС или HBsAg в сыворотке (плазме) крови, цельной крови или других биологических жидкостях организма могут применяться в клинической практике для быстрого ориентировочного обследования и принятия своевременных решений в экстренных ситуациях. В медицинских организациях применением экспресс-тестов должно сопровождаться обязательным дополнительным исследованием сыворотки (плазмы) крови пациента на наличие анти-ВГС, а при необходимости - одновременным обследованием на анти-ВГС и РНК ВГС. Выдача заключения о наличии или отсутствии анти-ВГС только по результатам экспресс-теста не допускается.
	Меры в отношении источника возбудителя инфекции	739. Дети, рожденные от инфицированных ВГС матерей, подлежат диспансерному наблюдению в медицинской организации по месту жительства с обязательным исследованием сыворотки (плазмы) крови на наличие анти-ВГС и РНК ВГС. Первое обследование ребенка проводится в возрасте 4 - 6 месяцев. 740. Дети, рожденные от инфицированных ВГВ матерей, подлежат диспансерному наблюдению в медицинской организации по месту жительства с обязательным исследованием сыворотки (плазмы) крови на наличие HBsAg и антител к HBsAg (анти-HBs) через 1 - 2 месяца после введения последней дозы вакцины против ГВ.
	Меры в отношении путей и факторов передачи возбудителя	747. Комплекс мероприятий в отношении контактных лиц включает, кроме прочего, лабораторное обследование в соответствии с Приложениями 16-18 к данным Санитарным правилам, в очагах ГВ - дополнительно проводится выявление анти-HBs. 748. Лица, у которых при первом обследовании выявлены анти-HBs, дальнейшему обследованию на ГВ не подлежат.
	Профилактические мероприятия	762. Показателем эффективности вакцинации является обнаружение анти-HBs в сыворотке (плазме) крови в концентрации более 10 мМЕ/мл через 1-2 месяца после введения последней дозы первичной серии вакцинации против ГВ. Отсутствие анти-HBs в более отдаленные сроки не является признаком неэффективности вакцинации против ГВ. 767. С целью профилактики профессиональных заражений ГВ и ГС проводится, наряду с другим, ежегодное обследование медицинских работников с определением концентрации анти-HBs.
	Профилактика ГВ и ГС при переливании донорской крови и ее компонентов, пересадке органов и тканей, искусственном оплодотворении	771. Безопасность донорской крови (ее компонентов), донорских органов (тканей) подтверждается отрицательными результатами лабораторного исследования образцов крови доноров, взятых во время каждого забора донорского материала, на наличие возбудителей гемотрансмиссивных инфекций, в том числе ВГВ и ВГС, с использованием иммунохимических и молекулярно-биологических методов. 772. Молекулярно-биологические исследования на маркеры ВИЧ-инфекции, ГВ и ГС проводятся для всех серонегативных образцов крови доноров. Допускается одновременное проведение молекулярно-биологических и иммунохимических исследований образцов крови доноров.

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
2	Профилактика заражения новорожденных от инфицированных ВГВ или ВГС матерей	<p>777. Все дети, родившиеся от женщин, инфицированных ВГВ или перенесших острый ГВ в III триместре беременности, подлежат диспансерному наблюдению в детской поликлинике по месту жительства с определением активности аланинаминотрансферазы сыворотки крови и исследованием на HBsAg в 4-6 месяцев.</p> <p>778. В случае, если при скрининговом обследовании в первом триместре беременности анти-ВГС выявлены впервые в жизни, но РНК ВГС не выявляется, то следующее обследование на наличие указанных маркеров инфицирования ВГС проводится в III триместре беременности. Если при повторном обследовании также выявляются анти-ВГС при отсутствии РНК ВГС, указанный случай в дальнейшем не считается подозрительным на ГС. Для установления возможных причин положительного результата (реконвалесцент острого ГС или ложноположительный результат) дополнительное обследование на анти-ВГС проводится через 6 месяцев после родов.</p>
XXXI. Профилактика вирусного гепатита А и Е		
3	Профилактика вирусного гепатита А и Е	<p>2352. Показателем наличия иммунитета к вирусу гепатита А (ВГА) является присутствие в крови IgG к ВГА (анти-ВГА IgG).</p> <p>2353. IgG к вирусу гепатита Е (анти-ВГЕ IgG) выявляются в крови больного от начала клинических проявлений и продолжают циркулировать не менее года.</p>
	Лабораторная диагностика	<p>2361. Иммунохимическим (серологическим) методом в сыворотке крови определяют наличие антител иммуноглобулинов классов М (IgM) и G к вирусам гепатитов А (анти-ВГА IgM и анти-ВГА IgG) и Е (анти-ВГЕ IgM и анти-ВГЕ IgG).</p> <p>2362. Молекулярно-биологическим методом определяют рибонуклеиновую кислоту (РНК) ВГА и ВГЕ в сыворотке (плазме) крови и (или) фекалиях.</p> <p>2363. Лабораторным критерием подтверждения случая ГА является обнаружение анти-ВГА IgM в сыворотке крови и (или) РНК ВГА в сыворотке (плазме) крови и (или) фекалиях.</p> <p>2364. Лабораторным критерием подтверждения случая острого ГЕ является обнаружение анти-ВГЕ IgM и анти-ВГЕ IgG в сыворотке (плазме) крови или выявление РНК ВГЕ в сыворотке (плазме) крови и (или) фекалиях.</p> <p>2365. Лабораторным критерием подтверждения случая хронического ГЕ является обнаружение РНК ВГЕ в сыворотке (плазме) крови в течение 3 и более месяцев.</p>
	Организация и проведение санитарно-эпидемиологических мероприятий. Мероприятия в эпидемическом очаге	<p>2374. С целью лабораторного подтверждения потенциальной опасности водных объектов как фактора передачи ВГА в зависимости от конкретной эпидемиологической ситуации молекулярно-биологическим методом определяют РНК ВГА в хозяйственно-бытовых сточных водах, воде поверхностных и подземных источников питьевого водоснабжения, водопроводной воде.</p> <p>2411. Для своевременного выявления заболевших организуется медицинский осмотр работников, занятыми уходом за поголовьем животных, с обязательным лабораторным обследованием на ГЕ.</p>
XXXV. Профилактика кори, краснухи, эпидемического паротита		
4	Лабораторная диагностика кори, краснухи и эпидемического паротита	<p>2727. Для лабораторной диагностики кори, краснухи и эпидемического паротита применяется серологический метод. В качестве стандартного теста используется определение IgM иммуноферментным методом (ИФА). В дополнение к обнаружению IgM могут определяться четырехкратное увеличение уровня специфических IgG и молекулярно-генетический метод исследования.</p> <p>2729. Выявление в сыворотке крови больного (лиц с подозрением на заболевание) специфических IgM методом ИФА является основанием для установления (подтверждения) диагноза "корь", "краснуха", "эпидемический паротит".</p> <p>2731. При выявлении IgM к вирусу кори у лиц с лихорадкой и пятнисто-папулезной сыпью, обследуемых в рамках активного эпидемиологического надзора за корью, дополнительно проводится одновременное исследование двух сывороток крови на IgG.</p> <p>2732. Взятие крови для исследований осуществляется на 4 - 5 календарный день с момента появления сыпи (1-я сыворотка) и не ранее чем через 10-14 календарных дней от даты взятия первой пробы (2-я сыворотка).</p> <p>2733. Нарастание титра специфических антител, относящихся к IgG, в 4 и более раза при одновременном исследовании в стандартных серологических тестах парных сывороток крови является основанием для постановки диагноза "корь" или "краснуха", "эпидемический паротит".</p> <p>2734. Молекулярно-генетический метод применяется для определения генотипа возбудителя кори или краснухи для выявления импортированных случаев кори/краснухи и доказательства элиминации этих инфекций в стране, отсутствия циркуляции эндемичных генотипов вирусов кори/краснухи.</p>

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
4	Мероприятия в очагах кори, краснухи и эпидемического паротита	<p>2761. Беременные женщины, находившиеся в очагах краснушной инфекции, подлежат медицинскому наблюдению и динамическому серологическому обследованию на наличие IgM и IgG к вирусу краснухи в целях предупреждения развития врожденных заболеваний новорожденных. Взятие проб крови у беременных проводят одновременно со взятием крови у первого больного в очаге.</p> <p>2763. В случае, если при первом обследовании у беременной выявлены специфические IgG при отсутствии IgM к возбудителю краснушной инфекции в концентрациях (титрах) 25 МЕ/мл и выше (условно защитных), обследование повторяют через 10-14 календарных дней для исключения возможных ложноположительных результатов. Если при повторном исследовании выявлены специфические IgG и не обнаружены IgM к вирусу краснухи, то риск исключается, и дальнейшее медицинское наблюдение по контакту в очаге краснушной инфекции не проводят.</p> <p>2764. В случае, если антитела IgG и IgM не обнаружены, беременной необходимо исключить контакт с больным краснухой и повторить обследование через 10-14 календарных дней.</p> <p>2765. При отрицательном результате повторного исследования, через 10-14 дней проводят следующее (третье) серологическое обследование. В течение всего срока обследований за беременной продолжают медицинское наблюдение. Если при третьем обследовании антитела не выявлены, то наблюдение за беременной прекращают.</p> <p>2767. Если при первом обследовании в крови у беременной обнаружены специфические IgM- и IgG-антитела к возбудителю краснушной инфекции, беременную предупреждают о наличии риска врожденной патологии плода, о чем делается запись в медицинской документации, удостоверяемая подписями врача и беременной. Через 10 - 14 календарных дней после первого обследования проводят повторное серологическое обследование с определением avidности IgG-антител.</p>
XXXVI. Профилактика ветряной оспы и опоясывающего лишая		
5	Лабораторная диагностика ветряной оспы и опоясывающего лишая	2811. Лабораторными критериями, подтверждающими клинический диагноз случая ветряной оспы, кроме прочего, являются: выявление IgM или низкоавидных IgG к вирусу Варицелла Зостер (<i>Varicella Zoster virus</i>) (ВЗВ) в сыворотке крови; нарастание титра специфических антител в 4 и более раз в течение 10 - 14 календарных дней (метод парных сывороток) при исследовании ИФА или в реакции связывания комплемента.
	Клиническая диагностика и критерии постановки диагнозов ветряной оспы и опоясывающего лишая	2812. Эпидемиологически случаи ветряной оспы подразделяются на "подозрительные", "вероятные" и "подтвержденные" случаи. "Подтвержденным" считается случай заболевания ветряной оспой после лабораторного подтверждения диагноза
	Противоэпидемические мероприятия	2854. Для предупреждения врожденной патологии у новорожденных, в отношении беременных женщин, имевших контакт с заболевшим инфекцией, вызванной ВЗВ, проводят серологическое исследование. Если при первом исследовании в крови у беременной обнаружены специфические IgM и IgG к ВЗВ, через 10 - 14 календарных дней после первого исследования проводят второе с определением avidности IgG
Приказ Минздрава России от 10.06.2021 №629н (ред. от 19.08.2022) "Об утверждении Порядка диспансерного наблюдения детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями" (зарегистрирован 15.07.2021 №64274) Срок действия документа до 01.03.2028 г.		
1	Приложение. Периодичность и объем диспансерного наблюдения детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями. Апластические анемии (D60 - D64)	Для трансфузионнозависимых пациентов - не реже 1 раза в год: - анализ маркеров гемотрансмиссивных инфекций (гепатиты В и С, ВИЧ-инфекции, возможно других).
2	Приложение тоже. Нарушение свертываемости крови, пурпура и другие геморрагические состояния (D65 - D69)	При коагулопатиях, тромбоцитопатиях, тромбоцитопениях, требующих заместительной или гемотрансфузионной терапии - через 3 месяца после каждой трансфузии препаратов крови, не реже 1 раза в год; при иммунной тромбоцитопении - через 3 месяца после выписки из стационара и через 3 месяца после каждой трансфузии препаратов крови: - серологическое исследование маркеров ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С.
Приказ Минздрава России от 29.07.2022 №519н "Об утверждении Порядка проведения медицинского обследования донора, давшего письменное информированное добровольное согласие на изъятие своих органов и (или) тканей для трансплантации" (зарегистрирован 30.08.2022 №69838) Срок действия документа до 01.09.2029 г.		
1	7. В случае донорства органов и (или) тканей (за исключением костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток) медицинское обследование включает	Пункты: 3) определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови; 4) определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови; 8) определение HBsAg ВГВ в крови; 9) определение анти-ВГС в крови; 10) определение антител к <i>Treponema pallidum</i> (бледной трепонеме) в крови; 12) определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в нетрепонемных тестах (RPR (Rapid Plasma Reagin) - антикардиолипиновый тест, РМП - реакция микропреципитации) (качественное и полуколичественное исследование) в сыворотке крови

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
2	8.3. Лабораторные исследования	<p>Пункты:</p> <p>6) определение антител к цитомегаловирусу (анти-ЦМВ) IgG в крови;</p> <p>7) определение антител анти-ЦМВ IgM в крови;</p> <p>8) определение антител к вирусу простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) IgG в крови;</p> <p>9) определение анти-ВПГ-2 IgG в крови;</p> <p>10) определение анти-ВПГ-1,2 IgM в крови;</p> <p>11) определение антител к капсидному антигену (VCA) вируса Эпштейна-Барр (анти-ВЭБ) IgM в крови;</p> <p>12) определение анти-ВЭБ к ранним белкам (EA) IgG в крови;</p> <p>13) определение анти-ВЭБ к ядерному антигену (NA) IgG в крови;</p> <p>14) исследование уровня анти-ВИЧ-1,2 IgM, G и p24 в крови;</p> <p>15) определение HBsAg ВГВ в крови;</p> <p>16) определение анти-ВГС в крови;</p> <p>17) определение антител классов к ядерному антигену ВГВ (анти-НВс) в крови;</p> <p>18) определение анти-НВс, (количественное исследование);</p> <p>19) определение антител к е-антигену (HBeAg) ВГВ (анти-НВе) в крови;</p> <p>20) определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в нетрепонемных тестах (RPR, РМП) (качественное и полуколичественное исследование) в сыворотке крови;</p> <p>21) определение антител к <i>Treponema pallidum</i> методом ИФА в крови;</p> <p>46) определение антител к токсоплазме IgM в крови;</p> <p>47) определение антител к токсоплазме IgG в крови.</p>
<p>Приказ Минздрава России от 19.04.2021 №371н "Об утверждении Стандарта медицинской помощи взрослым при легочной гипертензии, в том числе хронической тромбоэмболической легочной гипертензии (диагностика, лечение и диспансерное наблюдение)" (зарегистрирован 24.05.2021 №63592)</p>		
1	<p>Медицинские услуги для диагностики.</p> <p>1.2 Лабораторные методы исследования.</p> <p>2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением.</p> <p>2.2. Лабораторные методы исследования</p>	<p>2811. Лабораторными критериями, подтверждающими клинический диагноз случая ветряной оспы, кроме прочего, являются: выявление IgM или низкоавидных IgG к ВЗВ в сыворотке крови; нарастание титра специфических антител в 4 и более раз в течение 10 - 14 календарных дней (метод парных сывороток) при исследовании ИФА или в реакции связывания комплемента.</p>
<p>Приказ Минздрава России от 17.02.2022 №81н "Об утверждении Стандарта медицинской помощи пациентам пожилого и старческого возраста при когнитивных расстройствах (диагностика и лечение)" (зарегистрирован 24.03.2022 №67892)</p>		
1	<p>1. Медицинские услуги для диагностики заболевания, состояния.</p> <p>1.2. Лабораторные методы исследования</p>	<p>Определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в нетрепонемных тестах (RPR, РМП) (качественное и полуколичественное исследование) в сыворотке крови;</p> <p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> методом ИФА в крови;</p> <p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в реакции непрямой иммунофлюоресценции в ликворе;</p> <p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в реакции пассивной гемагглютинации (качественное и полуколичественное исследование) в ликворе.</p>
2	<p>Приложение тоже. Нарушение свертываемости крови, пурпура и другие геморрагические состояния (D65 - D69)</p>	<p>При коагулопатиях, тромбоцитопатиях, тромбоцитопениях, требующих заместительной или гемотрансфузионной терапии - через 3 месяца после каждой трансфузии препаратов крови, не реже 1 раза в год; при иммунной тромбоцитопении - через 3 месяца после выписки из стационара и через 3 месяца после каждой трансфузии препаратов крови:</p> <p>- серологическое исследование маркеров ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С.</p>
<p>Приказ Минздрава России от 06.10.2022 N 651н "Об утверждении Стандарта медицинской помощи взрослым при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре (диагностика и лечение)" (зарегистрирован 09.11.2022 №70869)</p>		
1	<p>1. Медицинские услуги для диагностики заболевания, состояния.</p> <p>1.2. Лабораторные методы исследования</p>	<p>Определение анти-ЦМВ в крови;</p> <p>Определение анти-ВЭБ (VCA) в крови;</p> <p>Определение анти-ВЭБ (VCA) IgG в крови;</p> <p>Определение анти-ВЭБ (NA) IgG в крови;</p> <p>Определение анти-НВс в крови;</p> <p>Определение анти-ВГС в крови;</p> <p>Определение анти-ВПГ в крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в нетрепонемных тестах (RPR, РМП) (качественное и полуколичественное исследование) в сыворотке крови;</p> <p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> методом ИФА в крови.</p>



Название нормативного документа

№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
<p align="center">Приказ Минздрава РФ от 27.09.2023 №501н "Об утверждении Стандарта медицинской помощи взрослым при хроническом вирусном гепатите D (диагностика, лечение и диспансерное наблюдение)" (зарегистрирован 03.11.2023 №75841)</p>		
1	<p>1. Медицинские услуги для диагностики заболевания, состояния. 1.2. Лабораторные методы исследования</p>	<p>Определение РНК ВГD в крови методом ПЦР, качественное исследование; Определение анти-ВГD в крови.</p>
2	<p>2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. 2.2. Лабораторные методы исследования</p>	<p>Определение ДНК ВГВ в крови методом ПЦР, количественное исследование; Определение РНК ВГD в крови методом ПЦР, качественное и количественное исследование; Определение HBsAg в крови; Определение анти-HBs в крови.</p>
<p align="center">Приказ Минздрава РФ от 02.10.2023 №522н "Об утверждении Стандарта специализированной медицинской помощи детям при юношеском артрите с системным началом (диагностика и лечение)" (зарегистрирован 03.11.2023 №75846)</p>		
1	<p>1. Медицинские услуги для диагностики заболевания, состояния. 1.2. Лабораторные методы исследования</p>	<p>Определение ДНК ВЭБ методом ПЦР в периферической и пуповинной крови, количественное исследование; Молекулярно-биологическое исследование крови на токсоплазмы; Определение ДНК ЦМВ методом ПЦР в периферической и пуповинной крови/слюне/моче, количественное исследование; Определение ДНК ВПГ-1,2 типов методом ПЦР в крови/моче, количественное исследование; Определение ДНК возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов группы <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> в крови методом ПЦР; Определение IgG к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов группы <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> в крови; Определение IgM к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов группы <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> в крови; Определение суммарных антител к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов группы <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> в крови; Определение антител классов А, М, G к хламидии птичьей (<i>Chlamydia psitaci</i>) в крови; Определение IgM к хламидии трахоматис (<i>Chlamydia trachomatis</i>) в крови; Определение IgG к <i>Chlamydia trachomatis</i> в крови; Определение IgM, IgG к микоплазме пневмонии (<i>Mycoplasma pneumoniae</i>) в крови; Определение антител к сальмонелле кишечной (<i>Salmonella enterica</i>) в крови; Определение антител к сероварам иерсинии энтероколитика (<i>Yersinia enterocolitica</i>) в крови; Определение ДНК <i>Mycobacterium tuberculosis complex</i> с дифференциацией вида в мокроте, бронхоальвеолярной лаважной жидкости или промывных водах бронхов методом ПЦР; Микробиологическое (культуральное) исследование биоптатов слизистой желудка хеликобактер пилори (<i>Helicobacter pylori</i>).</p>
2	<p>2. Медицинские услуги для лечения заболевания, состояния и контроля за лечением. 2.2. Лабораторные методы исследования</p>	<p>Определение ДНК ВЭБ методом ПЦР в периферической и пуповинной крови, количественное исследование; Молекулярно-биологическое исследование крови на токсоплазмы; Определение ДНК ЦМВ методом ПЦР в периферической и пуповинной крови/слюне/моче, количественное исследование; Определение ДНК ВПГ-1,2 типов методом ПЦР в крови/моче, количественное исследование; Определение антител классов А, М, G к <i>Chlamydia psitaci</i> в крови; Определение IgM к <i>Chlamydia trachomatis</i> в крови; Определение IgG к <i>Chlamydia trachomatis</i> в крови; Определение IgM, IgG к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> в крови; Определение антител <i>Salmonella enterica</i> в крови; Определение антител к сероварам <i>Yersinia enterocolitica</i> в крови; Определение IgM, IgG к иерсинии псевдотуберкулеза (<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>) в крови.</p>

Нормативные документы

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
<p>Приказ Министра обороны РФ от 06.07.2021 №395 "Об утверждении Особенности проведения диспансерного наблюдения за военнослужащими Вооруженных Сил РФ и гражданами, призванными на военные сборы, проводимые в Вооруженных Силах РФ, и перечня исследований, включаемых в диспансерное наблюдение за военнослужащими Вооруженных Сил РФ и гражданами, призванными на военные сборы, проводимые в Вооруженных Силах РФ" (зарегистрирован 25.08.2021 №64753)</p>		
1	<p>Приложение №2. Перечень исследований, включаемые в диспансерное наблюдение за военнослужащими вооруженных сил РФ</p>	<p>п.93. Острые вирусные гепатиты В, С, D, микст-гепатиты: - определение HBsAg в крови, качественное исследование с периодичностью через 1, 3 и 6 месяцев;</p> <p>п.94. Хронические вирусные гепатиты В, С, D, микст-гепатиты: - определение HBeAg - 1 раз в 6 месяцев (у пациентов с HBeAg-позитивным хроническим ГВ). - определение HBsAg в крови, качественное исследование - 1 раз в 6 месяцев; - определение анти-HBs в крови, качественное исследование - при отрицательном результате исследования на HBsAg.</p> <p>п.95. ВИЧ-инфекция: - определение HBsAg в крови - 1 раз в год, - определение анти-HBc ВГВ в крови - 1 раз в год, - определение анти-ВГС в крови - 1 раз в год, - определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в крови - 1 раз в год.</p> <p>п.96. Незавершенная диагностика ВИЧ-инфекции (военнослужащие, серопозитивные в иммуноферментном анализе при отрицательном или неопределенном результате иммунного блоттинга): - исследование уровня антител к отдельным белкам вируса иммунодефицита человека ВИЧ-1,2 в крови (иммунный блоттинг ВИЧ), - определение HBsAg в крови - при каждом повторном исследовании крови на ВИЧ, - определение анти-ВГС в крови - при каждом повторном исследовании крови на ВИЧ, - определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в крови - при каждом повторном исследовании крови на ВИЧ.</p> <p>п.97. Наличие реальной возможности заражения ВИЧ-инфекцией (по эпидемическим показаниям): - исследование уровня анти-ВИЧ-1,2 IgM, IgG и антигена p24 в крови: при первичном обращении, в дальнейшем через 1 и 3 месяца, - определение HBsAg в крови - при каждом повторном исследовании крови на ВИЧ, - определение анти-ВГС в крови - при каждом повторном исследовании крови на ВИЧ, - определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в крови - при каждом повторном исследовании крови на ВИЧ.</p> <p>п.107. Инфекционный мононуклеоз: - исследование уровня анти-ВИЧ-1,2 IgM, IgG и антигена p24 в крови: через 3 и 6 месяцев после выписки из медицинской организации и перед снятием с учета.</p> <p>п.147. Хронические воспалительные заболевания оболочек глаза (кератиты, склериты, передние и задние увеиты, хориоретиниты), по показаниям: - определение антител к <i>Chlamydia trachomatis</i> в крови; - определение анти-ЦМВ IgM, IgG; - определение анти-ВЭБ (VCA) IgM, IgG; - определение анти-ВПП-1,2 в крови; - определение антител к токсоплазме в крови.</p> <p>п.203. Состояние после трансплантации печени: - определение HBsAg; - определение анти-HBs; - определение HBeAg; - ПЦР на ДНК ВГВ, РНК ВГД, РНК ВГС - 1 раз в мес. (в зависимости от этиологии цирроза); - ПЦР на ДНК ВЭБ, ЦМВ, ВПП 1 раз в 3 мес.</p> <p>п.204. Состояние после трансплантации почки, п.205. Состояние после трансплантации сердца, 206. Состояние после трансплантации легкого: - определение HBsAg; - определение анти-HBs; - определение HBeAg; - ПЦР на ДНК ВЭБ, ЦМВ, ВПП, ВГВ; РНК ВГД, ВГС - 1 раз в 3 месяца</p>
<p>Приказ Минтруда России №402н, Минздрава России №631н от 10.06.2021 "Об утверждении перечня медицинских обследований, необходимых для получения клинично-функциональных данных в зависимости от заболевания в целях проведения медико-социальной экспертизы" (зарегистрирован 29.07.2021 №64450)</p>		
1	<p>Раздел I. п.1.2.1. Хронический вирусный гепатит В с дельта-агентом. п.1.2.2. Хронический вирусный гепатит В без дельта-агента.</p>	<p>Определение HBeAg и анти-HBe в крови.</p>

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
Клинические рекомендации** "Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура у взрослых" (утв. Минздравом России), год утверждения - 2021. Возрастная категория: взрослые.		
1	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>Исследование крови на сифилис, ВИЧ, антитела к вирусам гепатитов В и С рекомендуется для исключения вторичной тромбоцитопении всем пациентам:</p> <ul style="list-style-type: none"> - определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в нетрепонемных тестах (RPR, РМП) (качественное и полуколичественное исследование) в сыворотке крови; - определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови; - определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови; - определение HBsAg в крови; - определение анти-ВГС в крови; <p>Для исключения вирус-индуцированной тромбоцитопении всем пациентам рекомендуется:</p> <ul style="list-style-type: none"> - определение анти-ВПГ в крови; - определение анти-ВЭБ (VCA) в крови; - определение анти-ВЭБ (VCA) IgG в крови; - определение анти-ВЭБ (NA) IgG в крови; - определение анти-ЦМВ в крови; - определение антител к ВЗВ. <p>Проведение ПЦР на эти вирусы следует проводить при положительных серологических тестах, при подозрении на рецидив, латентную инфекцию или персистенцию вируса.</p> <p>Рекомендуется диагностика <i>Helicobacter pylori</i> любым методом для исключения одной из причин тромбоцитопении, у пациентов с отягощенным анамнезом или клиническими проявлениями язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки</p>
Клинические рекомендации** "Инфекционный эндокардит и инфекция внутрисердечных устройств" (утв. Минздравом России), год утверждения - 2021. Возрастная категория: взрослые.		
1	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в нетрепонемных тестах (RPR, РМП) (качественное и полуколичественное исследование) в сыворотке крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение HBsAg в крови;</p> <p>Определение анти-ВГС в крови</p> <p>в рамках первичного обследования, при поступлении в стационар и далее каждые 12 месяцев рекомендовано всем пациентам с инфекционным эндокардитом для исключения ассоциации с ВИЧ-инфекцией, гепатитом, сифилисом.</p>
Клинические рекомендации**** "Переломы бедренной кости (кроме проксимального отдела бедренной кости)" (утв. Минздравом России), год утверждения - 2021. Возрастная категория: взрослые.		
1	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в нетрепонемных тестах (RPR, РМП) (качественное и полуколичественное исследование) в сыворотке крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение анти-ВГА;</p> <p>Определение HBsAg в крови;</p> <p>Определение анти-ВГС в крови.</p>
Клинические рекомендации** "Иммунная тромбоцитопения" (утв. Минздравом России), год утверждения 2021. Возрастная категория: взрослые.		
1	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>Определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение HBsAg в крови;</p> <p>Определение анти-ВГС в крови;</p> <p>Определение анти-ЦМВ IgM, IgG;</p> <p>Определение анти-ВЭБ IgM, IgG в крови;</p> <p>рекомендуется всем пациентам при подозрении на иммунную тромбоцитопению.</p>

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
Клинические рекомендации** "Апластическая анемия" (утв. Минздравом России), год утверждения 2021. Возрастная категория: дети.		
1	Приложение А3.1.	<p>Госпитальный скрининг:</p> <ul style="list-style-type: none"> - определение HBsAg в крови; - определение анти-HBc в крови; - молекулярно-биологическое исследование крови на ВГС; - молекулярно-биологическое исследование крови на <i>Treponema pallidum</i>; - определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови; - определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови; - определение ДНК ВГВ в крови методом ПЦР, количественное исследование; - определение РНК ВГС в крови методом ПЦР, количественное исследование; - определение анти-ЦМВ IgM, IgG в крови; - определение анти-ВПГ-1,2 IgG в крови; - определение анти-ВПГ-1,2 IgM в крови; - определение анти-ВЭБ (VCA) IgM в крови; - определение анти-ВЭБ (VCA) IgG в крови; - определение анти-ВЭБ (NA) IgG в крови; - определение антител к ВЗВ IgM в крови; - определение антител к ВЗВ IgG в крови. - определение IgG к токсоплазме в крови; - определение IgM к токсоплазме в крови.
Клинические рекомендации*** "Женское бесплодие" (утв. Минздравом России), год утверждения 2021. Возрастная категория: взрослые		
1	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>С целью подготовки к программе вспомогательных репродуктивных технологий рекомендовано:</p> <ul style="list-style-type: none"> - исследование уровня анти-ВИЧ-1,2 IgM, IgG и антигена p24 ВИЧ-1 в крови; - определение анти-HBs или определение HBsAg в крови; - определение анти-ВГС сумм. в крови; - определение IgG и IgM к вирусу краснухи (<i>Rubella virus</i>) в крови, - определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в крови.
Клинические рекомендации*** "Острый гепатит С (ОГС) у детей" (утв. Минздравом России), год утверждения 2022. Возрастная категория: дети.		
1	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>Диагноз острый или хронический ГС подтверждается только при выявлении в сыворотке (плазме) крови РНК ВГС или <i>core Ag</i> с учетом данных эпидемиологического анамнеза и результатов биохимии.</p> <p>На этапе скрининга: определение анти-ВГС сумм. (IgM, IgG) в крови рекомендуется лицам из группы повышенного риска с целью исключения инфицирования.</p>
Клинические рекомендации*** "Перикардиты" (утв. Минздравом России), год утверждения - 2022. Возрастная категория: взрослые.		
1	5. Профилактика и диспансерное наблюдение, медицинские показания и противопоказания к применению методов профилактики	<p>Определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови;</p> <p>Определение HBsAg в крови;</p> <p>Определение анти-ВГС в крови</p> <p>рекомендуется всем пациентам с перикардитом для исключения ассоциации с ВИЧ-инфекцией, гепатитом.</p>
Клинические рекомендации** "Хронический вирусный гепатит С" (утв. Минздравом России), год утверждения - 2022. Возрастная категория: взрослые.		
1	2. Диагностика заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний) медицинские показания и противопоказания к применению методов диагностики.	<p>Определение анти-ВГС сумм. (IgM, IgG) и РНК/<i>core Ag</i> ВГС в крови на протяжении более 6 месяцев для постановки диагноза хронический вирусный ГС.</p>

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
2	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>На этапе скрининга: скрининг на наличие хронического вирусного ГС основан на выявлении анти-ВГС. Если обнаружены анти-ВГС, следует обязательно провести анализ на РНК ВГС. В случае если анализ на РНК недоступен, допустимо провести тест на core Ag. Рекомендуется обследование на анти-ВГС у лиц из группы повышенного риска для выявления потенциально инфицированных;</p> <p>На этапе постановки диагноза: определение генотипа ВГС для планирования генотип-специфичной схемы противовирусной терапии;</p> <p>На этапе диспансерного наблюдения: всем пациентам, получившим курс терапии, рекомендуется определение РНК ВГС через 12 недель после окончания лечения для оценки его эффективности.</p>
3	3. Лечение, включая медикаментозную и немедикаментозную терапии, диетотерапию, обезболивание, медицинские показания и противопоказания к применению методов лечения. 3.12 Беременные	<p>Определение анти-ВГС сумм. (IgM, IgG) в крови рекомендуется для выявления хронического вирусного ГС в I (при постановке на учет по беременности) и в III триместрах беременности</p>
Клинические рекомендации** "Острый гепатит В (ОГВ) у детей" (утв. Минздравом России), год утверждения - 2022. Возрастная категория: дети.		
1	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>Определение HBsAg (качественное исследование), анти-HBs (качественное исследование), анти-HBc IgM, анти-HBc IgG, HBeAg, анти-HBe в крови методом ИФА или хемилюминесценции рекомендуются с целью установления этиологии гепатита;</p> <p>Определение ДНК ВГВ в крови методом ПЦР (качественное исследование) рекомендуется всем пациентам с целью подтверждения этиологии гепатита.</p>
Клинические рекомендации** "Хронический вирусный гепатит D (ХВГD) у взрослых" (утв. Минздравом России), год утверждения - 2022. Возрастная категория: взрослые.		
1	2. Диагностика заболевания или состояния (группы заболеваний или состояний) медицинские показания и противопоказания к применению методов диагностики	<p>Критерии установления заболевания или состояния:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Наличие HBsAg в крови; - Наличие анти-ВГD в крови; - РНК ВГD в крови методом ПЦР; <p>Рекомендуется у всех лиц с наличием HBsAg в крови определение анти-ВГD в крови независимо от уровня ДНК ВГВ, активности аминотрансфераз в крови, наличия симптомов.</p>
2	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>Определение анти-ВГD в крови рекомендуется пациентам с хроническим вирусным ГD с положительным результатом;</p> <p>Определение РНК ВГD в крови методом ПЦР, качественное исследование, для диагностики фазы инфекционного процесса;</p> <p>Определение РНК ВГD качественное исследование, рекомендуется пациентам с хроническим вирусным ГD, получающим этиотропное (противовирусное) лечение, через 24 или 48 недель лечения, спустя 24 недели после завершения лечения;</p> <p>Определение HBsAg и анти-HBs в крови для подтверждения серологического ответа на лечение - HBsAg-сероконверсии, через 48 недель лечения и спустя 24 недели после завершения лечения.</p> <p>Определение РНК ВГD в крови методом ПЦР, качественное исследование, с целью контроля течения заболевания, исключения рецидива у пациентов, ответивших на этиотропное (противовирусное) лечение рекомендуется пациентам с хроническим вирусным ГD 2 раза в год.</p>
Клинические рекомендации*** "Рассеянный склероз" (утв. Минздравом России), год утверждения 2022. Возрастная категория: взрослые		
1	2.3 Лабораторные диагностические исследования	<p>Всем пациентам с подозрением на рассеянный склероз рекомендуется назначать следующие лабораторные анализы для исключения сопутствующих заболеваний и определения возможности назначения последующей терапии:</p> <ul style="list-style-type: none"> - определение анти-ВИЧ-1 IgM, IgG в крови; - определение анти-ВИЧ-2 IgM, IgG в крови; - определение HBsAg в крови; - определение анти-HBs в крови; - определение анти-HBc в крови; - определение анти-ВГС сумм. в крови; - определение антител к <i>Treponema pallidum</i> в нетрепонемных тестах (RPR, РМП) (качественное и полуколичественное исследование) в сыворотке крови.

Название нормативного документа		
№ п/п	Название профильных разделов	Краткое описание
Временные методические рекомендации МЗ РФ "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)", версия 18 от 26.10.2023 г. (утв. Минздравом России)		
1	4.2. Лабораторная диагностика COVID-19. 4.2.1. Лабораторная диагностика этиологическая	Выявление РНК коронавируса II типа (SARS-CoV-2) с применением методов амплификации нуклеиновых кислот; Выявление антигенов SARS-CoV-2 с применением иммунохроматографических методов; Выявление IgA, M, G к SARS-CoV-2 (в том числе к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S); Для определения уровней иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 необходимо использовать наборы реагентов для количественного определения антител, а результаты исследований представлять с использованием условных единиц измерения ВАУ/мл (binding antibody units, "единицы связывающих антител").
2	5.7. Особые группы пациентов. Особенности лечения COVID-19 у пациентов с хроническими заболеваниями печени	При назначении препаратов с иммуномодулирующим и противовоспалительными свойствами необходимо провести анализ крови на HBsAg и анти-HBc с целью исключения инфекции вирусом ГВ.
Методические рекомендации МЗ РФ "Организация оказания медицинской помощи беременным, роженицам, родильницам и новорожденным при новой коронавирусной инфекции COVID-19", версия 5 от 28.12.2021 г. (утв. Минздравом России)		
1	3.1. Лабораторная диагностика	Выявление РНК SARS-CoV-2 с применением методов амплификации нуклеиновых кислот; Выявление антигена SARS-CoV-2 с применением иммунохроматографических методов; Выявление IgA, M, G к SARS-CoV-2 (в том числе к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S).
2	8.1. Клинико-эпидемиологическая характеристика COVID-19 у новорождённых	Детекция РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР в режиме реального времени.
3	8.4. Тестирование новорождённых для установления COVID-19 статуса	Исследование соскоба эпителия из ротоглотки на наличие РНК вируса методом ПЦР всех детей, рожденные у матерей с подозреваемым/подтвержденным инфицированием SARS-CoV-2 требуют исследования соскоба эпителия из ротоглотки на наличие РНК вируса методом ПЦР

Примечание:

* - Настоящие Санитарные правила, утв. данным документом, действуют до 01.09.2027,

** - В соответствии с Постановлением Правительства РФ от 17.11.2021 №1968 данный документ применяется с 01.01.2023,

*** - В соответствии с Постановлением Правительства РФ от 17.11.2021 №1968 данный документ применяется с 01.01.2024,

****- В соответствии с Постановлением Правительства РФ от 17.11.2021 №1968 данный документ применяется с 01.01.2022.

Диагностика лейкоз крупного рогатого скота

В соответствии с Приказом Министерства сельского хозяйства РФ от 24.03.2021 №156 "Об утверждении ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота"

Настоящие Ветеринарные правила, утв. данным приказом, вступают в силу с 1 сентября 2021 г. и действует до 1 сентября 2027 г.

I. Область применения

1. Настоящие Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота (КРС) (далее - Правила), устанавливают обязательные для исполнения требования к осуществлению профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установлению и отмене на территории РФ карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза КРС (далее - лейкоз).

2. Правилами устанавливаются обязательные требования к организации и проведению мероприятий по ликвидации лейкоза, предотвращению его возникновения и распространения на территории Российской Федерации (РФ).

II. Общая характеристика лейкоза

3. Лейкоз - хронически протекающая инфекционная болезнь КРС. В развитии болезни различаются бессимптомная, гематологическая и клиническая стадии. В бессимптомной и гематологической стадиях у восприимчивых животных характерные клинические признаки болезни отсутствуют. Бессимптомная стадия болезни характеризуется наличием в сыворотке крови восприимчивых животных антител к возбудителю лейкоза.

4. Возбудителем лейкоза является онкогенный РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству Retroviridae роду Deltaretrovirus (далее - возбудитель). Инкубационный период болезни составляет от 2 месяцев до 6 лет.

5. Источником возбудителя являются больные восприимчивые животные, в том числе восприимчивые животные, не имеющие клинических признаков и выделяющие возбудитель во внешнюю среду.

6. Передача возбудителя осуществляется контактным, алиментарным, внутриутробным, ятрогенным и трансмиссивным путями. Факторами передачи возбудителя являются кровь, молоко, секреты и экскреты больных восприимчивых животных и инфицированных восприимчивых животных, а также другие объекты внешней среды, контаминированные возбудителем.

III. Профилактические мероприятия

(здесь и далее информация представлена выборочно*)

8**. Комплектование хозяйств должно осуществляться здоровыми восприимчивыми животными, подвергнутыми в течение последних 180 календарных дней до дня поступления в хозяйство исследованиям на лейкоз, методами, предусмотренными главой V настоящих Правил.

Поступившие в хозяйство восприимчивые животные подвергаются серологическим исследованиям на лейкоз методами, предусмотренными главой V настоящих Правил. Указанное требование не распространяется на восприимчивых животных, перемещаемых в пределах земельных участков, зданий, строений, сооружений, принадлежащих на праве собственности или ином законном основании юридическому лицу и его дочерним и зависимым обществам, за исключением восприимчивых животных, поступивших в хозяйства, осуществляющие разведение племенного КРС.

Восприимчивые животные, поступившие в хозяйства, осуществляющие разведение племенного КРС, должны подвергаться серологическим исследованиям, предусмотренным главой V настоящих Правил, двукратно.

9. В целях доказательства отсутствия циркуляции возбудителя в хозяйствах специалистами госветслужбы проводятся:

- а) отбор проб крови для серологических исследований методами, предусмотренными главой V настоящих Правил:
 - от восприимчивых животных старше 6-месячного возраста (за исключением быков-производителей (доноров), коров-доноров эмбрионов, восприимчивых животных, используемых для получения крови или сыворотки крови в целях производства биологических препаратов (далее - животные-продуценты) - 1 раз в год;
 - от животных-продуцентов - 2 раза в год с интервалом не менее 180 календарных дней;
- б) ветеринарно-санитарная экспертиза (ст. 21 Закона РФ от 14.05.1993 г. №4979-1 "О ветеринарии") продуктов убоя (за исключением крови), полученных от восприимчивых животных.

IV. Мероприятия при подозрении на лейкоз

10. Основаниями для подозрения на лейкоз, кроме прочего, является получение положительных результатов при проведении серологических исследований, предусмотренных п. 9 настоящих Правил;

11. При наличии оснований для подозрения на лейкоз владельцы восприимчивых животных обязаны сообщить в течение 24 часов любым доступным способом о подозрении на лейкоз должностному лицу органа исполнительной власти субъекта РФ, осуществляющего переданные полномочия в области ветеринарии; содействовать специалистам госветслужбы в проведении отбора проб биологического и (или) патологического материала от восприимчивых животных и направлении проб в лабораторию (испытательный центр) органов и организаций, входящих в систему Государственной ветеринарной службы РФ.

12. До получения результатов диагностических исследований на лейкоз владельцы восприимчивых животных обязаны предпринять ряд мер по предотвращению распространения заболевания (подробнее см. данный пункт в оригинале документа).

14. При возникновении подозрения на лейкоз на объектах, подведомственных федеральному органу исполнительной власти (перечень таковых см. в данном пункте в оригинале документа), подведомственные должностные лица ветеринарных (ветеринарно-санитарных) служб указанных органов должны, вместе с прочим, провести отбор проб биологического и (или) патологического материала от восприимчивых животных и направление проб в лабораторию в течение 48 часов с момента отбора проб.

V. Диагностические мероприятия

18. От восприимчивых животных должны отбираться пробы биологического и (или) патологического материала:

- от восприимчивых животных старше 6 месяцев - пробы крови для серологических исследований в объеме 5 - 7 мл без антикоагулянта или с фактором свертывания крови;

- от восприимчивых животных в возрасте от 15 календарных дней до 6 месяцев включительно - пробы крови для молекулярно-биологических исследований в объеме 5 - 7 мл с антикоагулянтом;

- от восприимчивых животных старше 6 месяцев, давших положительный результат при серологических исследованиях в соответствии с п. 22 настоящих Правил, - пробы крови для гематологических исследований в объеме 5 - 7 мл с антикоагулянтом;

- от трупов восприимчивых животных должны отбираться фрагменты селезенки, лимфатических узлов, грудной кости, печени, почек, легких, сердца, органов пищеварения (в случае их поражения), матки и скелетных мышц длиной 2 см, шириной 2 см, толщиной 1 см. Патологический материал отбирается в случае, если с момента гибели или убоя восприимчивого животного прошло не более 8 часов.

Пробы крови для серологических и гематологических исследований должны отбираться не ранее, чем через 14 календарных дней после дня введения восприимчивым животным живых вакцин или иммунобиологических лекарственных препаратов - аллергенов, дня отела, не позднее чем за 14 календарных дней до дня отела. Пробы крови для гематологических исследований должны отбираться не позднее 7 календарных дней со дня получения положительных результатов серологических исследований.

19. Упаковка и транспортирование проб биологического и (или) патологического материала должны обеспечивать их сохранность и пригодность для исследований в течение срока транспортировки. Емкости с пробами биологического и (или) патологического материала должны быть упакованы и опечатаны. К пробам прилагается сопроводительное письмо и опись проб крови с указанием порядковых номеров проб, инвентарных номеров или кличек восприимчивых животных и др. сведений.

20. Лабораторные исследования проб биологического и (или) патологического материала должны проводиться с использованием серологических, гистологических, молекулярно-биологических и гематологических методов исследований.

Серологические исследования должны проводиться методами иммуноферментного анализа (далее - ИФА) и (или) иммунодиффузии. Молекулярно-биологические исследования должны проводиться методом полимеразной цепной реакции.

21. Диагноз на лейкоз считается установленным в одном из следующих случаев:

- получен положительный результат при гематологическом исследовании;

- обнаружены патологоанатомические изменения, характерные для лейкоза при гистологическом исследовании;

- получен положительный результат при серологических исследованиях.

22. Результаты серологических исследований являются положительными при обнаружении антител к возбудителю. В случае, если получен положительный результат при проведении серологических исследований, при отрицательных результатах гематологических исследований и отсутствии патологоанатомических изменений, восприимчивые животные считаются инфицированными восприимчивыми животными.

В случае, если получен положительный результат гематологических исследований или обнаружены патологоанатомические изменения, восприимчивое животное считается больным восприимчивым животным.

23. Руководитель лаборатории в течение 12 часов после получения результатов лабораторных исследований в письменной форме должен проинформировать руководителя органа исполнительной власти субъекта РФ, осуществляющего

переданные полномочия в области ветеринарии, специалиста госветслужбы, направившего биологический и (или) патологический материал на исследования, о полученных результатах.

В случае установления диагноза на лейкоз руководитель лаборатории в течение 12 часов после получения результатов лабораторных исследований в письменной форме должен проинформировать ветеринарные (ветеринарно-санитарные) службы федеральных органов исполнительной власти в случае поступления проб биологического и (или) патологического материала с объекта, подведомственного указанным органам.

27. Должностное лицо органа исполнительной власти субъекта РФ, осуществляющего переданные полномочия в области ветеринарии, или подведомственной ему организации должно проинформировать о неустановлении диагноза на лейкоз владельцев восприимчивых животных в течение 24 часов с момента получения соответствующей информации.

VII. Отмена карантина

43. Отмена карантина осуществляется после вывоза из эпизоотического очага больных и инфицированных восприимчивых животных, убоя последнего больного и инфицированного восприимчивого животного (в случае, если в хозяйстве суммарное количество больных и инфицированных восприимчивых животных составляет до 5% от общего количества восприимчивых животных), получения двух подряд, с интервалом в 90 календарных дней, отрицательных результатов серологических исследований восприимчивых животных старше 6-месячного возраста, и отрицательных результатов молекулярно-биологических исследований восприимчивых животных в возрасте от 15 календарных дней до 6 месяцев включительно, а также проведения других мероприятий, предусмотренных настоящими Правилами.

Примечание:

* - раздел VI. "Установление карантина, ограничительные и иные мероприятия, направленные на ликвидацию очагов лейкоза, а также на предотвращение его распространения" в данной редакции документа не представлен.

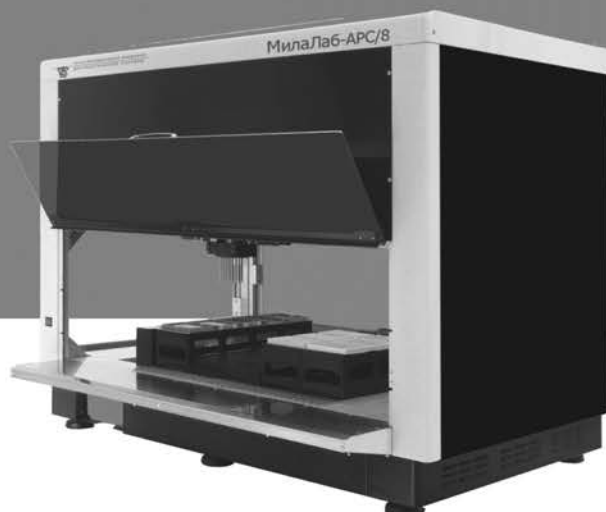
** - нумерация пунктов сохранена как в оригинальном документе

СПИСОК АББРЕВИАТУР

Анти-ВГА	антитела к вирусу гепатита А	КРС	крупный рогатый скот
Анти-ВГЕ	антитела к вирусу гепатита Е	ЛИС	лабораторная информационная система
Анти-ВГС	антитела к вирусу гепатита С	мМЕ/мл	миллимеждународная единица на миллилитр
Анти-ВГD	антител к вирусу гепатита D	ОШ	отношение шансов/рисков
Анти-ВИЧ	антитела к вирусу иммунодефицита человека	ПЦР	полимеразная цепная реакция
Анти-ВПГ-1	антитела к вирусу простого герпеса 1 типа	РИД	реакция иммунодиффузии
Анти-ВПГ-2	антитела к вирусу простого герпеса 2 типа	РМЖ	рак молочной железы
Анти-ВПГ-1,2	антитела к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов	РМП	реакция микропреципитации
Анти-ВЭБ	антитела к вирусу Эпштейна-Барр	РНК	рибонуклеиновая кислота
Анти-ВЭБ (VCA)	антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр	РФ	Российская Федерация
Анти-ВЭБ (ЕА)	антитела к ранним белкам вируса Эпштейна-Барр	СОП	стандартная операционная процедура
Анти-ВЭБ (NA)	антитела к ядерному антигену вируса Эпштейна-Барр	ТО	техническое обслуживание
Анти-ЦМВ	антитела к цитомегаловирусу	ЦМВ	цитомегаловирус
Анти-НВе	антитела к е-антигену ВГВ	BLV	<i>(bovine leukemia virus)</i> вирус лейкоза крупного рогатого скота
Анти-НВс	антитела к ядерному антигену ВГВ	Core Ag	капсидный антиген вируса гепатита С
Анти-НВs	антитела к поверхностному антигену ВГВ	COVID-19	новая коронавирусная инфекция
ВГА	вирус гепатита А	НВеAg	е-антиген вируса гепатита В
ВГВ	вирус гепатита В	НВsAg	поверхностный антиген вируса гепатита В
ВГЕ	вирус гепатита Е	HTLV-1	<i>(Human T-cell lymphotropic virus type 1)</i> вирус Т-клеточного лейкоза человека
ВГС	вирус гепатита С	Ig	иммуноглобулин
ВГD	вирус гепатита D	IgA	иммуноглобулин класса А
ВЗВ	вирус Варицелла Зостер (<i>Varicella Zoster virus</i>)	IgG	иммуноглобулин класса G
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека	IgM	иммуноглобулин класса M
ВПЧ	вирус папилломы человека	MMTV	<i>(Mouse mammary tumor virus)</i> вирус опухоли молочной железы мыши
ВЭБ	вируса Эпштейна-Барра	pH	кислотность среды (концентрация ионов водорода в окружающей среде)
ДИ	доверительный интервал	RPR	(Rapid Plasma Reagin) антикардиолипиновый тест
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота	SARS-CoV-2	коронавирус II типа
ИФА	иммуноферментный анализ	ToRCH (ТОРЧ)	сокращенное название (аббревиатура) наиболее часто встречающихся внутриутробных инфекций, очень опасных для плода: токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирус и герпес.

МилаЛаб-АРС/8

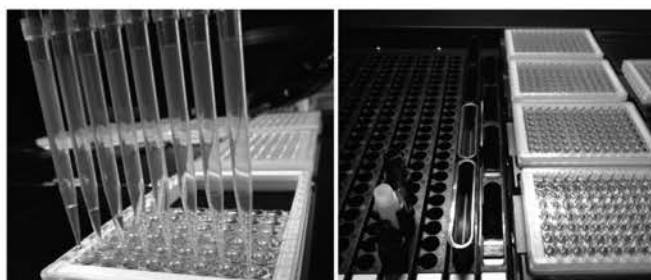
Автоматизированная раскапывающая станция



Станция разработана для эффективной автоматизации процесса пробоподготовки и решения задач дозирования жидкости. Она является незаменимым инструментом для повышения эффективности, пропускной способности и безопасности исследований в клинично-диагностической лаборатории.

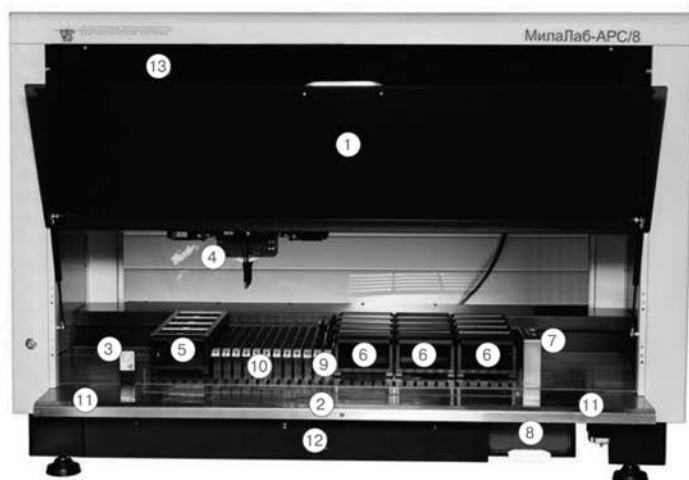
КАЧЕСТВО, КОМФОРТ И БЕЗОПАСНОСТЬ

- автоматизация ИФА
- визуализация работы, интуитивное управление
- работа одноразовыми наконечниками
-  критически важно для достоверного и безопасного определения инфекций
- двусторонняя интеграция с ЛИС
- автоматическая идентификация образцов по штрих-коду
- защита от неавторизованных вмешательств
- адаптация прибора к спектру ИФА исследований лаборатории, обучение персонала
- гарантийное и сервисное обслуживание сертифицированными специалистами НПО «Диагностические системы»



ГИБКОСТЬ И СКОРОСТЬ

- комплектация с оптимальной начальной загрузкой:
 - до 12 микропланшетов
 - до 384 образцов (в первичных пробирках)
 - до 48 контролей и калибраторов
 - до 8 кювет с реагентами
 - 384 одноразовых наконечника
- возможность использования:
 - планшетов для предварительного разведения
 - пробирок типа Eppendorf с фиксацией крышки в вертикальном положении
- совместное использование с другими приборами, включая Gemini
- легкая интеграция протоколов:
 - программирование до 12-ти планшетов
 - широкие возможности по стыковке тестов
 - подбор минимального времени постановки
- 8 каналов дозирования



- ① Крышка Станции МилаЛаб-АРС/8 с ручкой
- ② Загрузочная платформа
- ③ Встроенный сканер штрих-кода
- ④ Модуль пипетирующих дозаторов
- ⑤ Держатель штативов с наконечниками
- ⑥ Держатели микропланшетов на 4 позиции
- ⑦ Устройство для сброса одноразовых наконечников
- ⑧ Контейнер для использованных наконечников
- ⑨ Держатели реагентов
- ⑩ Держатели образцов
- ⑪ Подставка загрузочной области
- ⑫ Панель основания декоративная передняя
- ⑬ Защитная передняя панель

ФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ И ТОЧНОСТЬ

- дозирование от 10 до 800 мкл:
 - одиночное и мультидозирование
 - разведение
 - архивирование планшетов
 - погрешность одиночного дозирования <3%
- производительность 4 планшета за 18 минут
- система контроля пипетирования:
 - детекция наконечника
 - определение уровня жидкости
 - детекция фибриновых сгустков
 - контроль дефицита образца или реагента
- контроль качества и сохранение истории

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

- стол с кронштейном для управляющего компьютера (моноблока)
- принтер
- источник бесперебойного питания

ГАБАРИТЫ ОБОРУДОВАНИЯ

- Д x Ш x В 1550 x 1020 x 1050 мм
- с управляющим компьютером
Д x В x Ш 2300 x 1020 x 1050 мм
- вес 265 кг

ТОВАР ЗАРЕГИСТРИРОВАН НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
 РУ № ФСЗ 2021/15013 ОТ 09.08.2020 г.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Нижний Новгород

Центральный офис
ООО «НПО «Диагностические системы»:

603155, г. Нижний Новгород
ул. Горького, д. 195
тел./факс канцелярии (831) 434-86-83
тел. 8-800-555-03-00 (звонок по России бесплатный)
E-mail: info@npods.ru, selling@npods.ru
официальный сайт: <http://www.npods.ru>

Служба поддержки клиентов:
тел.(831) 467-82-18 (доб.7647,7655)
E-mail: help-ds@npods.ru

Представительства

Москва	Диагностические системы—Столица 123317, г. Москва, Пресненская наб, д.12, Деловой комплекс "Федерация", Башня "Восток", 29-й этаж тел. (495) 653-81-31, 653-81-32 ds-stolica@bk.ru
Санкт-Петербург	Диагностические системы—СПб 194214, г. Санкт-Петербург, ул.Рашетова, д.14, пом.12Н тел/факс (812) 414-46-56 info@spb-npods.ru
Красноярск	ООО "Диагностические системы—Сибирь" 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 16 д тел./ факс (391) 219-22-20, отдел закупок (391) 219-99-10 sbit@ds-s.ru
Екатеринбург	ООО «Диагностические системы—Урал» 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 12, стр. 5, вход 6 отдел продаж: (343) 272-33-08 ds-ural@npods.ru
Оренбург	ООО «Диагностические системы—Оренбург» 460048, г. Оренбург, ул. Транспортная, д. 2Г, офис 107 тел./факс: (912) 348-12-08 info@dsoren.ru
Краснодар	ООО «Диагностические системы—Юг» 350020, г Краснодар, ул Гаражная, д. 78, помещ. 13 тел./факс: 8 800 250 19 39 operator2@yug-ds.ru