

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НОРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ: СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ

Вафокулов Саъдулло Хакимович,

Вафокулова Наргиза Хамзаевна,

Яхьяева Хонзодахон Джахонгировна,

Бобояров Рахим Рустамович

Ассистенты кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии

Самаркандского государственного медицинского университета.

Резюме: в данной статье рассказывается о современных методах лабораторной диагностики, необходимых для качественного и быстрого обследования, которые используются при диагностике норовирусной инфекции. Кроме того, представлены современные данные, отражающие статистику частоты регистрации единичных случаев норовирусной инфекции. Методы лабораторного обследования для выявления норовирусов в биологических материалах пациентов приведены современные данные о молекулярно-биологических и серологических методах диагностики. Метод ИФА раскрывает процедуру выявления антигенов норовирусов геногруппы I и II, иммунохроматографического анализа и применения полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Широкий спектр аналитических методов обуславливает необходимость их широкого внедрения в клиническую практику.

Ключевые слова: норовирусная инфекция, норовирусный гастроэнтерит, методы диагностики, ИФА

LABORATORY DIAGNOSIS OF OF NOROVIRUS INFECTION IN INFANTS

Vafokulov Sadullo Khakimovich,

*Vafokulova Nargiza Khamzaevna,
Yakhyaeva Khonzodakhon Dzhakhongirovna,
Boboyarov Rakhim Rustamovich*
*Assistants, Department of Infectious Diseases and Epidemiology
Samarkand State Medical University.*

Resume: this article describes modern methods of laboratory diagnostics necessary for high-quality and rapid examination, which are used in the diagnosis of norovirus infection. In addition, modern data reflecting statistics on the frequency of registration of single cases of norovirus infection are presented. Methods of laboratory examination for the detection of noroviruses in the biological materials of patients, modern data on molecular biological and serological diagnostic methods are presented. The ELISA method reveals the procedure for detecting antigens of noroviruses of genogroup I and II, immunochromatographic analysis and the use of polymerase chain reaction with reverse transcription in real time. A wide range of analytical methods necessitates their widespread introduction into clinical practice.

Keywords: norovirus infection, rotavirus gastroenteritis, diagnostic methods, ELISA

Выведение. Норовирусы относятся к семейству Caliciviridae, которое поражает широкий круг позвоночных, включая человека. Калицивирусы были выделены из семейства Picornaviridae в 1979 году. В современной таксономии семейство Caliciviridae включает 6 родов вирусов: Lagovirus, Vesivirus, Norovirus, Sapovirus, Recovirus и Nebovirus. Патогенными для человека являются представители двух родов - Sapovirus (род Sapovirus, штамм типа вируса Саппоро) и норовирусы (род Norovirus, штамм типа вируса Норволк). Геногруппа I норовирусов (G-I) чаще всего выявляется в спорадических случаях и редко выявляется при диссеминированных норовирусных инфекциях. Геногруппа II норовирусов является наиболее распространенной (G-II). Доля норовирусов второй геногруппы при норовирусном гастроэнтерите составляет 80%-90%. Источником и резервуаром инфекции является больной человек или бессимптомный вирусоноситель. В настоящее время на основании

сравнительного анализа нуклеотидной последовательности генома норовирусы подразделяют на семь геногрупп (GL-GVII), из которых представители геногрупп L, VI и VII выделены только от человека, а типы III и V - от животных и человека. Генотипы норовирусов, в свою очередь, делят на субгенотипы или геноварианты [1,5,7].

Норовирус группы I (NvGL) обнаруживается у 0,6% - 17% детей с острым гастроэнтеритом [1,3,7]. Среди NvGL разные авторы выделяют 8-16 генотипов [2,9]. NvGL обычно выявляется при спорадической форме заболевания и редко вызывает эпидемии гастроэнтеритов норовирусной этиологии [5].

Наиболее распространенной геногруппой норовирусов является геногруппа II, среди которой различные авторы признают, что генотипы 19-23 также распространены [8,9]. Исследования, проведенные в разных географических регионах и в разное время года, показали, что разные генотипы норовирусов встречаются одновременно [2,4,11].

Наиболее распространенной геногруппой норовирусов являются норовирусы группы II (GII). Различные эпидемические геноварианты сменяют друг друга, вызывая глобальные эпидемии острого гастроэнтерита. Человеческие норовирусы не культивируются в лабораторных условиях [14, 15].

Отсутствие специфических клинических проявлений острого гастроэнтерита норовирусной этиологии обуславливает необходимость проведения лабораторных исследований для диагностики. Чувствительность электронной микроскопии для диагностики норовирусной инфекции низкая - 35-50%. Норовирусы в кале обнаруживаются только в течение первых 24-48 часов от начала заболевания. В редких случаях заболевание выявляется клинически спустя 72 часа после начала рвоты или диареи [6,10]. Для выявления антигенов норовирусов геногрупп GI и GII используют иммуноферментный анализ (ИФА), при этом тест-система ИФА имеет

чувствительность 60-90% и специфичность 100%. Однако на практике чувствительность этого метода не превышает 70% [12, 13].

Цель исследования: проанализировать методы лабораторной диагностики норовирусной инфекции, применяемые в настоящее время.

Современная диагностика в медицине немыслима без высокочувствительных лабораторных тестов. Разработаны также иммунохимические методы диагностики, экспресс-тесты на выявление антигенов норовирусной инфекции, специфичность которых составляет 100%, а время анализа не более 15 минут [10]. Выявление норовируса в образцах кала с помощью молекулярных методов в настоящее время является основным методом тестирования [13, 14].

В последнее десятилетие метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для выявления РНК норовируса стал широко использоваться для диагностики норовирусной инфекции у пациентов, а также для обнаружения вируса в продуктах питания и объектах окружающей среды. Несмотря на высокую чувствительность и специфичность метода ОТ-ПЦР, следует отметить, что такие факторы, как низкая концентрация вируса в фекалиях, неправильное хранение образцов, неэффективность выделения вирусной РНК, наличие ингибиторов обратной транскриптазы в фекалиях [11, 12], ограничивают обнаружение норовирусов в фекалиях [13]. За последние годы достигнут значительный прогресс в разработке диагностических методов выявления норовирусов человека. Сегодня для подтверждения или опровержения первоначального диагноза достаточно одного метода тестирования, например, ИФА. В качестве биологического материала в основном используют образцы кала, поскольку в кале содержится большое количество вируса. Точность результатов диагностических тестов на норовирус зависит от качества образцов, предоставленных для анализа. Биологический материал, предоставленный для анализа, должен быть собран в специальный закрытый контейнер в течение 48-72 часов после появления симптомов. Перед тестированием образцы следует охладить до 4 °С или заморозить до -20 °С для

длительного хранения. Рвотные массы пациентов являются альтернативным биологическим материалом для выявления норовирусной инфекции и могут использоваться в качестве дополнения к анализу кала для диагностики заболевания во время эпидемических вспышек [15]. Тест иммунофлюоресценции (ИФА) широко используется для выявления антигенов норовируса GI и GII в образцах кала. Чувствительность этого метода оценивается в 60-90%, а специфичность близка к 100%. Чувствительность метода зависит от вирусной нагрузки в биологическом материале и генотипов вируса в образце. В ряде исследований показана эффективность ИФА в выявлении норовирусов при спорадическом норовирусном гастроэнтерите [11, 14]. Иммуноферментный анализ (ИФА) - метод лабораторной диагностики, позволяющий выявлять специфические антитела и антигены при различных патологиях. ИФА - более современный и дорогой вариант ИФА. В качестве биологического материала для ИФА/ИФА используют различные образцы плазмы или сыворотки крови, а также суточную мочу (например, для определения кортизола).

Быстрое обнаружение антигена норовируса в образцах кала с помощью иммунохроматографических анализов может быть альтернативой ИФА (когда ИФА недоступен). Чувствительность этого быстрого анализа составляет 17-92%. Этот анализ имеет приблизительно 100% специфичность. Учитывая эти характеристики, положительные результаты теста надежны, но отрицательные результаты теста могут потребовать подтверждения с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией [3, 4]. Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) является золотым стандартом для обнаружения и типирования норовируса. Чувствительность обычных анализов ОТ-ПЦР составляет 52-73%, что указывает на то, что этот метод недостаточно эффективен в некоторых случаях. Этот недостаток был преодолен с разработкой ОТ-ПЦР в реальном времени для обнаружения и генотипирования норовирусов.

Многие современные анализы используют специфичные для группы генов олигонуклеотидные праймеры и люминесцентные зонды, обычно нацеленные на один регион генома. Доступны мультиплексные анализы, которые могут одновременно обнаруживать присутствие нескольких генотипов норовируса. Например, можно одновременно обнаруживать штаммы GI и GII [6,7,15].

За последние 50 лет методы диагностики норовирусов значительно усовершенствовались. В современную эпоху спектр аналитических методов расширяется. К новым разработкам в области молекулярной лабораторной диагностики норовирусной инфекции относятся биосенсоры (моноклональные антитела, аптамеры), их способность концентрировать норовирусы, микрочиповые и омиксные тесты [4, 9].

Заключение: Текущая тенденция широкого распространения норовирусной инфекции и рост заболеваемости создают угрозу возникновения масштабной эпидемии. Для быстрой и эффективной диагностики норовирусной инфекции необходимо внедрение универсальных тест-систем в повседневную клиническую практику. Быстрая диагностика и идентификация подтипов норовируса имеет решающее значение для предотвращения распространения вируса по всему миру, а также для улучшения своевременного лечения.

Литература:

1. Akhmadeeva E.N., Amirova V.R., Bryukhanova O.A. Peculiarities of the microbial landscape of newborns depending on the method of delivery. Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics 2006; 5, 19-21. (in Russ).
2. Vafokulov S.Kh., Rustamova Sh.A., Vafokulova N.Kh. Analysis of the problems of acute intestinal infections in children born by caesarean section in the Camarqand region. Journal of Hepato-Gastroenterology Research. 2021; 1(02), 16-18. (in Uzb)
3. Nikolaeva I.V., Anokhin V.A., Kupchikhina L.A., Gerasimova E.S. Composition of intestinal microflora in children born by cesarean section. Bulletin of the Ural Medical Academic Science 2008; 2, 108-110. (in Russ).

4. Rustamova Sh.A., Vafokulova N.Kh. "Comparative analysis of the problem of acute intestinal infection in young children by year in the Samarkand region". Newsletter of the Tashkent Medical Academy. 2021; 5, 148-152. (in Russ).
5. Rustamova Sh.A., Vafokulova N.Kh. Comparative analysis of the problems of acute intestinal infections in children of early age in Samarkand region. Jurnal gepato-gastroenterologicheskix issledovaniy. 2021; 1(02), 101-104. (in Uzb)
6. Rustamova Sh.A. Analysis of the connection of acute infectious intestinal diseases in children with climatic changes in our republic (on the scale of Samarkand region). Scientific and practical journal of problems of biology and medicine. 2021; 3(128), 102-107. (in Uzb)
7. Vafokulov S.H., Rustamova Sh.A., Vafokulova N.H. Effect of delivery method on intestinal microbiocenosis in newborns. Problems of biology and medicine. 2022; 4(137), 42-45. (in Uzb)
8. Odilova G.M., Rustamova Sh.A. Immunological reactions in acute bacterial dysentery. Proceedings of the conference Youth and Medical Science in the 21st Century. 2019; 177-178. (in Russ).
9. Rustamova Sh.A., Kakhramonova A.K. Consequences in children born by cesarean section (using the Samarkand region as an example). Uzbek journal of case reports. 2023; 3(03), 90-92. (in Russ).
10. Zhuraev Sh.A., Anvarovna Y.N., Rustamova S.A., Mukhtarovich U.S., Buribaevna I.S. [Some clinical features of the chickenpox in adults and children in modern conditions.](#) European Journal of Molecular and Clinical Medicine. 2020; 7(03): 2716-2721.
11. Vafokulov S. Kh., Rustamova Sh. A. Features of intestinal microflora in newborns. Economy and society. 2024; 5(120), 1-8. (in Russ).
12. Shodiyeva G.R., Rustamova S.A., Ibragimova E.F. Correlation between respiratory system obstruction and changes in the cardiovascular system in bronchial asthma. Oriental renaissance: Innovative, educational, natural and social sciences. 2021; 1(11), 1214-1218. (in Uzb).