

УДК 579.887.9:616.37-078

## ПЕРЕХРЕСНІ РЕАКЦІЇ ПРИ ІМУНОДІАГНОСТИЦІ АНАПЛАЗМОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ МЕТОДОМ РНІФ

Похил С.І., Тимченко О.М., Лісняк Ю.В.,  
Чигиринська Н.А., Костиря І.А., Круглова Т.А.,  
Килипко Л.В.\* , Семеренська Є.І.\*

ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.  
Мечникова АМН України”  
Харківська обласна СЕС МОЗ України\*

Анаплазмозна інфекція (АІ, синоніми: анаплазмоз, гранулоцитарний анаплазмоз людини - ГАЛ) – трансмісивне (передається через укуси іксодових кліщів) інфекційне захворювання людей та ссавців, яке визивається облигатними внутрішньоклітинними патогенами - бактеріями роду *Anaplasma* і характеризується розвитком синдрому загальної інфекційної інтоксикації та специфічним враженням переважно білих клітин крові (найчастіше гранулоцитів, макрофагів) і значно рідше - еритроцитів та тромбоцитів [1, 2].

На теперішній час спорадичні і групові випадки ГАЛ зареєстровані на всіх континентах (за винятком Антарктиди) більш ніж в 50 країнах світу, в тому числі в країнах Європи та в Україні [1-3].

Сучасні принципи і критерії діагностики ГАЛ основані на епідеміологічних, клінічних і лабораторних даних. Останнім відводиться вирішальне значення в етіологічній діагностиці ГАЛ, так як клінічний перебіг цього інфекційного захворювання, як правило, не супроводжується специфічними клінічними проявами. Робоча група по вивченню *Rickettsia*, *Coxiella*, *Anaplasma (Ehrlichia)* і *Bartonella (EVWOG)* Європейського товариства з клінічної мікробіології та інфекційних хвороб рекомендувала основні (безсумнівні) та допоміжні (ймовірні) критерії для найбільш широко застосовуваних методів лабораторної діагностики ГАЛ: виявлення з допомогою світлової мікроскопії специфічних інтрацитоплазматичних мікроколоній (морул) збудника в клітинах-мішенях; виділення штамів збудника шляхом вирощування на спеціальних культурах еукаріотичних клітин; індикація специфічних локусів геному збудника з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР); виявлення в зразках клінічного матеріалу антигену збудника та (або) визначення рівня (титру) антитіл проти збудника в сироватці крові з допомогою імунологічних (серологічних) методів [4]. Завдяки простоті і уніфікованості технології відтворення, достат-

ньо високого рівня специфічності, чутливості та відтворюваності результатів дослідження в теперішній час найбільш часто для лабораторної діагностики АІ застосовуються імунологічні методи: імуноферментний аналіз (ІФА), твердофазний імуноферментний аналіз (ТІФА), імуноблотинг, реакція тривалого зв'язування компліменту (РТЗК), реакція імунофлюоресценції (РІФ), реакція непрямой імунофлюоресценції (РНІФ) та ін. [2, 4-7].

Застосування РНІФ дозволяє діагностувати ГАЛ як на ранній стадії захворювання шляхом виявлення в досліджуваних зразках клінічного матеріалу самого антигену (Анг) збудника, так і в період розпалу його клінічних проявів та на стадії видужання шляхом визначення рівня специфічних антитіл (Ант) проти антигенів збудника в сироватці крові. Останній методичний підступ дозволяє здійснювати не лише діагностику ГАЛ, але й проводити епідеміологічні дослідження специфічної імуноструктури населення для встановлення територій поширення АІ та для оцінки об'єктивного рівня захворюваності цією інфекцією людей [7, 8]. Для проведення таких досліджень у 2009 році в лабораторії нових та маловивчених інфекційних захворювань (ЛНМІЗ) ДУ “ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України” було створено експериментальні зразки двох типів РНІФ-тест-систем: для лабораторної діагностики АІ шляхом виявлення Анг збудника [9] та шляхом визначення рівня протианаплазмозних Ант у РНІФ [10].

Однак, наявність антигенної спорідненості анаплазм із філогенетично близькими до роду *Anaplasma* мікроорганізмами та з рядом інших збудників бактеріальних кліщових інфекцій обумовлює можливість виникнення перехресних реакцій при здійсненні імунодіагностики АІ на що вказує значна кількість зарубіжних дослідників [7, 11-16]. Тому, метою цієї роботи було дослідження ймовірності виникнення перехресних серологічних (імунологічних) реакцій (ППР) при використанні обох типів РНІФ-тест-систем, створених для лабораторної діагностики АІ.

### Матеріали та методи

При проведенні досліджень були використані експериментальні зразки створених у ЛНМІЗ ДУ “ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України” РНІФ-тест-систем: для лабораторної діагностики АІ шляхом виявлення Анг збудника в зразках клінічного матеріалу (рисунк 1) та шляхом визначення рівня (титру) протианаплазмозних Ант в сироватці крові (рисунк 2)

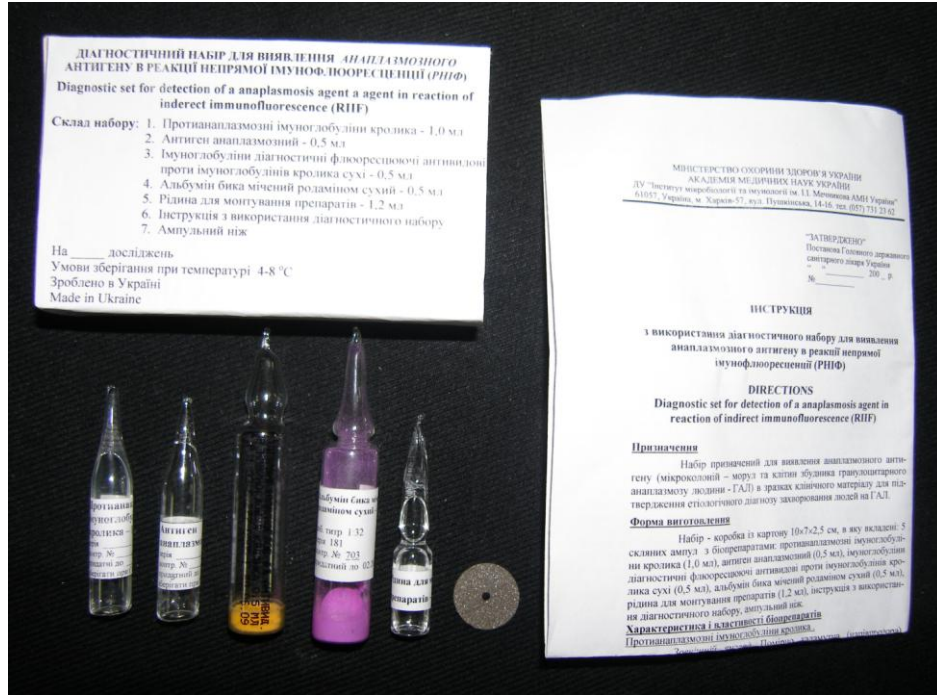


Рисунок 1 – Зовнішній вигляд і склад РНІФ-тест-системи для виявлення анаплазмозного Ант.

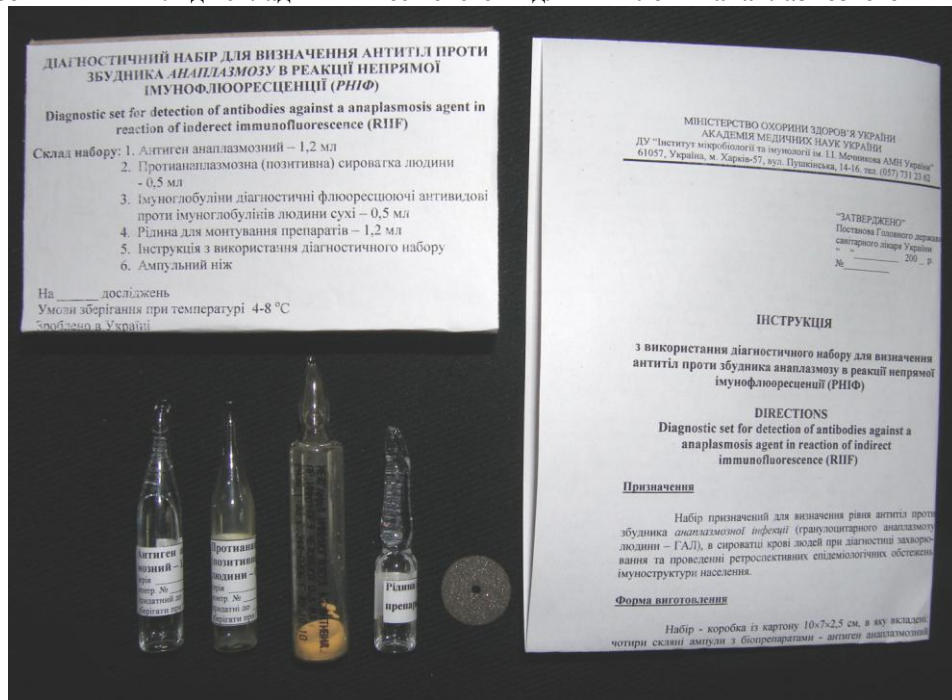


Рисунок 2. – Зовнішній вигляд і склад РНІФ-тест-системи для визначення рівня (титру) протианаплазмозних Ант.

Основними імунобіологічними препаратами, що входять до складу вказаних РНІФ-тест-систем і властивості яких, насамперед, впливають на ймовірність виникнення ППР, є Ант анаплазмозний (АнгАІ) та протианаплазмозні імуноглобуліни кролячі (протиАнапІgКр). За характеристикою – АнгАІ це суспензія повного корпускулярного антигену штаму *Anaplasma marginale* ВІЭВ 1 в ФСБ з рН=7,2, яка містить в яко-

сті консерванту 0,05 % (маса/об'єм) азиду натрію. Концентрація корпускул в суспензії АнгАІ становить  $(1,7 \pm 0,7) \times 10^6$ /мл, що забезпечує 40-60 клітин анаплазм в полі зору при дослідженні мікроскопічним фазово-контрастним методом (масляна імерсія, об'єктив  $\times 90$ , окуляр  $\times 10$ ). За характеристикою протиАнапІgКр – це  $\gamma$ -глобулінова фракція поліклональних імунних сироваток кроликів, яка теж містить в якості консерванту 0,05 % (маса/об'єм) азиду натрію.

В протиАнапІgКр концентрація білку становить  $(4,002 \pm 0,257)$  мг/мл, а титр специфічних АнтАІ -  $1:(26,7 \pm 7,1)$ .

В експериментах для вивчення ППР АнгАІ, протиАнапІgКр та діагностичними Анг філогенетично близьких до анаплазм мікроорганізмів та збудників інших бактерійних кліщових інфекцій, а також із діагностичними сироватками та імуноглобулінами (далі означені Анг) використовували препарати, що мали таке походження:

Анг *Bartonella henselae* та Ант проти *B. henselae* – ЛНМІЗ ДУ “ІМІ ім. І.І. Мечникова АМНУ”;

Анг *Rickettsia sibirica*, *Rickettsia prowazekii*, *Bartonella quintana* – Науково-виробниче об’єднання “Биомед” (м. Перм, РФ);

Анг *Franciella tularensis* та Ант проти *R. sibirica*, *R. prowazekii*, *B. quintana* – Омське підприємство по випуску бактерійних препаратів, філіал Федерального державного унітарного підприємства “НВО по медичним імунобіологічним препаратам ”МИКРОГЕН“, МОЗ РФ” (м. Омськ, РФ);

Анг *Brucella abortus*, *Borrelia afzelii* (оригінальна назва *B. burgdorferi sensu lato*, штам Ір-21) та Ант проти *Brucella abortus* – філіал “МЕДГАМАЛ” Державної установи “НДІ епідеміології і мікробіології ім. Н.Ф. Гамалеї РАМН” (філіал “МЕДГАМАЛ” ДУ “НДІ ЕМ ім. Н.Ф. Гамалеї РАМН”, м. Москва, РФ);

Анг *Coxiella burnetii* та Ант проти *Coxiella burnetii* – НДІ епідеміології і мікробіології ім. Л. Пастера МОЗ РФ (м. Санкт-Петербург, РФ);

Анг *Borrelia garinii* та Ант проти *Francisella tularensis* – ФДУП “НВО по медичним імунобіологічним препаратам “МИКРОГЕН”, МОЗ РФ” (м. Томськ, РФ);

Анг *Anaplasma marginale* та Ант проти *A. marginale* – Всеросійський НДІ експериментальної ветеринарії ім. Я.Р. Коваленко РАСХН (м. Москва, РФ). В дослідженнях було використано 2-3 різні серії кожного типу Анг і Ант.

Крім того, при постановці РНІФ використовували антивидові флюоресцюючі імуноглобуліни проти імуноглобулінів людини сухі, антивидові флюоресцюючі імуноглобуліни проти імуноглобулінів кролика сухі, альбумін бика мічений родаміном сухий виробництва філіал “МЕДГАМАЛ” ДУ “НДІ ЕМ ім. Н.Ф. Гамалеї РАМН”.

Ймовірність виникнення ППР між АнгАІ та гетерологічними по відношенню до нього вищевказаними Ант було вивчено в різнотипних імунологічних реакціях: РІФ, РТЗК, реакції мікроаглоутинації (РМА), реакції непрямої гемаглоутинації (РНГА), РНІФ. Використання кожного типу імунологічної реакції та відтворення її технології здійснювали у відповідності з інструкцією виробника Ант. Ймовірність виникнення ППР між протиАнапІgКр та гетерологічними по відношенню до них вищевказаними Анг було вивчено в РНІФ. Відтворення останньої здійснювали за загальноприйнятою технологією із оцінкою інтенсивності специфічної флюоресценції (з системою фільтрів для роботи з ФІТЦ) по чотирьох хрестовій системі визначень [17]. Позитивними вва-

жали результати РНІФ із інтенсивністю специфічної флюоресценції на “++++” і “+++”. За титр досліджених Ант приймали найбільше (останнє) їх розведення, яке обумовлювало результат РНІФ, що оцінено на “+++”. Всі імунологічні реакції з кожним типом Анг і Ант відтворювались триразово, супроводжувались постановкою завідомо негативними і позитивними контролюми. Узагальнені результати щодо наявності і рівня (титру) ППР в гетерологічних системах Анг+Ант (АнгАІ+гетерологічніАнт, протиАнапІgКр+гетерологічніАнт) у порівнянні із титром, який визначено в РНІФ із гомологічною системою АнгАІ+ протиАнапІgКр представляли через закономірність, що описується формулою (Лісняк Ю.В., Похил С.І., неопубліковані результати):

$$y = \frac{1}{2^{(n-k)}}$$
, де (тут і далі)  $y$  – титр позитивного ре-

зультату імунологічної реакції;  $\frac{1}{2}$  – постійний пока-

зник дискримінантного кроку в лінійності, при відтворенні імунологічної реакції (показник ступеню кожного послідовного розведення Анг та Ант);  $n$  – показник сумарної кількості кроків у лінійності з позитивним результатом імунологічної реакції із гомологічною системою АнгАІ+протиАнапІgКр;  $k$  – емпіричний показник зниження сумарної кількості кроків у лінійності з позитивним результатом імунологічної реакції із гетерологічними системами АнгАІ+гетерологічніАнт та протиАнапІgКр+гетерологічніАнт.

Результати досліджень підлягали статистичній обробці [18].

### Результати та їх обговорення

У відповідності з сучасною класифікацією мікроорганізмів бактерії роду *Anaplasma* віднесені до  $\alpha$ -групи Proteobacteria [19, 20]. Тому при дослідженні ймовірності виникнення перехресних ППР при використанні АнгАІ та протиАнапІgКр, що входять до складу РНІФ-тест-систем, створених для лабораторної діагностики АІ, були протестовані в різних імунологічних реакціях комерційні і експериментальні зразки діагностичних Анг і Ант проти філогенетично найбільш близьких до *Anaplasma* видів  $\alpha$ -групи Proteobacteria - *R. prowazekii*, *R. sibirica*, *B. abortus*, *B. henselae*, *B. quintana*, а також, Анг і Ант проти збудників найпоширеніших бактерійних кліщових інфекцій, які належать до інших груп Proteobacteria:  $\beta$ -групи – *B. garinii* і *B. afzelii*,  $\gamma$ -групи – *F. tularensis* і *C. burnetii*.

Результати цих досліджень показали ( $p < 0,005$ ) задовільний рівень специфічності експериментального зразку АнгАІ. При відтворенні всіх імунологічних (серологічних) реакцій між АнгАІ і діагностичними гетерологічними Ант, використаними в робочому розведенні, і тим більше, в розведенні до титру фарбування, в жодному випадку не було зафіксовано позитивного результату. Слід також зазначити, що при відтворенні РІФ з АнгАІ та комерційними препаратами імуноглобулінів діагностичних флюоресцюючих антивидових проти імуноглобулінів лю-

дини і кролика позитивних результатів реакції (з флуоресценцією на три хреста “+++”) не було отримано як при застосуванні робочого розведення, так і цільних препаратів цих імуноглобулінів. Однак, при використанні вихідних (цільних) Ант проти *R. prowazekii*, *R. sibirica*, *B. henselae*, *B. abortus* і *F. tularensis*, та цих Ант в меншому розведенні ніж робочий титр (який вказаний виробником діагностичного

препарату) були зафіксовані позитивні результати імунологічних реакцій ( $p < 0,005$ ). Визначені експериментальним шляхом значення показника  $k$  в імунологічних реакціях АнгAI+гетерологічніАнт при використанні цільних препаратів представлено в таблиці 1.

**Таблиця 1 – Значення емпіричного показника  $k$  в імунологічних реакціях АнгAI+гетерологічніАнт при використанні цільних препаратів Ант**

Тип (видова специфічність) Ант	Значення показника $k$
1	2
Проти <i>R. prowazekii</i>	4
Проти <i>R. sibirica</i>	3
Проти <i>B. henselae</i>	3
Проти <i>B. quintana</i>	$n$
Проти <i>B. abortus</i>	3
Проти <i>B. afzelii</i>	$n$
Проти <i>B. garinii</i>	$n$
Проти <i>F. tularensis</i>	4
Проти <i>C. burnetii</i>	$n$

Представлена в таблиці 1 закономірність отримання позитивного результату в імунологічних реакціях АнгAI+гетерологічніАнт є відображенням поліклональності використаних діагностичних Ант та наявності певної антигенної подібності між бактеріями роду *Anaplasma* і мікроорганізмами інших таксономічних груп – *Rickettsia*, *Bartonella*, *Coxiella*, що вже раніше було відмічено авторами [7, 12, 13, 20]. Результати наших досліджень розширюють відомості про спектр можливих ППР експериментального зразку АнгAI з гетерологічними Ант проти *B. abortus*, *F.*

*tularensis*. Однак, за умови застосування комерційних і експериментальних діагностичних препаратів Ант у робочому розведенні з дотриманням вимог інструкцій виробників цих Ант забезпечується достатній рівень специфічності імунологічних реакцій як з гомологічною, так і з гетерологічною системою Анг.

В таблиці 2 наведено значення показника  $k$ , визначені експериментальним шляхом у РНІФ із системою протиАнапIгКр+гетерологічніАнг.

**Таблиця 2 – Значення емпіричного показника  $k$  в імунологічних реакціях протиАнапIгКр+гетерологічніАнг при використанні цільних і розведених препаратів Ант**

Тип (видова специфічність) Анг	Значення показника $k$
<i>R. prowazekii</i>	$n$
<i>R. sibirica</i>	$n$
<i>B. henselae</i>	$n$
<i>B. quintana</i>	$n$
<i>B. abortus</i>	$n$
<i>B. afzelii</i>	$n$
<i>B. garinii</i>	$n$
<i>F. tularensis</i>	2
<i>C. burnetii</i>	$n$

Представлені в таблиці 2 дані підтверджують високий рівень специфічності ( $p < 0,005$ ) експериментального зразку протиАнапIгКр при тестуванні переважної більшості гетерологічних Анг. Виняток складає наявність ППР із корпускулярним антигеном *F. tularensis* ( $k=2$ ). Тому, для підтвердження наявності і визначення рівня антигенної спорідненості між *A. marginale* та *F. tularensis*, що обумовлює наявність позитивних результатів РНІФ із використанням протиАнапIгКр були проведені додаткові дослідження з метою встановлення кореляційної залежності між показником зниження титру позитивного результату РНІФ і зменшенням концентрації білку в препаратах протиАнапIгКр за умови видалення з останніх методом імуноадсорбції [21]

Ант, здатних зв'язуватись із корпускулярним Анг *F. tularensis*. Результати цих досліджень представлені в таблиці 3.

**Таблиця 3 – Результати визначення залежності між зниженням титру (позитивного результату) РНІФ і зменшенням концентрації білку в препаратах протиАнапІгКр за умови видалення Ант, здатних зв'язуватись із корпускулярним Анг *F. tularensis***

Система Анг+Ант при відтворенні РНІФ	Титр (позитивний результат) РНІФ, $1 : (\bar{m} \pm \bar{d})$	Концентрація білку в різних зразках протиАнапІгКр, $(\bar{m} \pm \bar{d})$ , мг/мл
АнгАІ+протиАнапІгКр	1 : (26,7±7,1)	(4,002±0,257)
АнгАІ+протиАнапІгКр, адсорбовані корпускулярним Анг <i>F. tularensis</i>	1 : (13,4±3,6)	(3,706±0,129)

Як видно із даних таблиці 3, зниження в два рази титру протианаплазмозних Ант в препаратах протиАнапІгКр, адсорбованих корпускулярним Анг *F. tularensis*, прямо корелює ( $p < 0,005$ ) із зменшенням концентрації білку в зразках протиАнапІгКр - на  $(0,296 \pm 0,064)$  мг/мл. При цьому титр РНІФ із гетерологічною системою (Анг *F. tularensis*+протиАнапІгКр, адсорбовані корпускулярним туляремійним антигеном) знижується до 0. Таким чином, видалення з протиАнапІгКр фракції Ант, які здатні вступати в імунологічні реакції з гомологічним і гетерологічним Анг (АнгАІ та Анг *F. tularensis*) забезпечує (при деякому зниженні загальної активності протиАнапІгКр) високий рівень специфічності адсорбованого препарату протиАнапІгКр.

Слід також додати, що в сучасній лабораторній практиці при проведенні імунологічної (серологічної) діагностики інфекційних захворювань і виявленні ПІР (за умови відсутності можливості проведення додаткових уточнюючих досліджень) верифікація етіології захворювання здійснюється за правилом “найвищого титру” [5, 6, 7, 11, 13], яке передбачає встановлення лабораторного діагнозу тієї інфекції, до збудника якої виявлено найвищий діагностично значимий рівень специфічних антитіл. Звичайно, що достовірно визначені діагностично значимі титри специфічних антитіл проти збудників декількох інфекційних захворювань дозволяють діагностувати і мікстну інфекцію [8, 14].

### Висновки

Результати досліджень ймовірності виникнення ПІР при використанні препаратів АнгАІ та протиАнапІгКр, які входять до складу експериментальних зразків РНІФ-тест-систем для діагностики АІ показали, що ці препарати не є абсолютно специфічними і можуть вступати в імунологічні реакції з гетерологічними Ант і Анг філогенетично близьких до анаплазм патогенів та мікроорганізмів інших таксономічних груп, які є збудниками кліщових бактеріальних інфекцій. Проте, відтворення діагностичних імунологічних реакцій із застосуванням комерційних і експериментальних імунобіологічних препаратів (в тому числі АнгАІ та протиАнапІгКр у РНІФ) за умов дотримання вимог інструкцій виробника цих препаратів дозволяє уникнути виникнення ПІР та забезпечує достатньо якісний рівень лабораторної верифікації етіології вказаних інфекційних захворювань.

Для запобігання ПІР між Анг *F. tularensis* та протиАнапІгКр, що входять до складу РНІФ-тест-системи для діагностики АІ шляхом визначення рівня (титру) протианаплазмозних Ант її доцільно комплектувати адсорбованими препаратами протиАнапІгКр.

### Список літератури

1. Васильева, И. С. Новые болезни, передаваемые иксодовыми клещами (Ixodidae). Эрлихиозы и анаплазмозы человека [Электронный ресурс] / И. С. Васильева / Режим доступа : [http:// lib 2005 rat - info.ru /files/](http://lib.2005.rat-info.ru/files/).
2. Dumler, J. S. *Anaplasma* and *Ehrlichia* infection [Text] / J. S. Dumler // Ann. N. Y. Acad. Sci. –2005. - Vol. 1063. - P. 361-373.
3. Білецька, Г. В. Гранулоцитарний анаплазмоз (ГАЛ) – нова природно-осередкова інфекція в Україні [Текст] / Г. В. Білецька, О. Ю. Новохатній, І. І. Бень // Матеріали науково-практичної конференції “Актуальні питання епідагляду за особливо небезпечними інфекціями, санітарна охорона території, біологічна безпека” – Іллічівськ, 8-10 вересня, 2009. – С. 122-123.
4. Малеев, В. В. Обзор Европейских рекомендаций по диагностике клещевых бактериальных инфекций [Текст] / В. В. Малеев // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. - 2005. - Т. 7, № 2. - С. 130-153.
5. Bakken, J. S. The serological response of patients infected with the agent of human granulocytic ehrlichiosis [Text] / J. S. Bakken, I. Haller, D. Riddell [et al] // Clin. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 34. – P. 22-27.
6. Brouqui, P. Diagnosis of granulocytic ehrlichiosis in humans by immunofluorescence assay [Text] / P. Brouqui, E. Salvo, J. S. Dumler, D. Raoult // Clin. Diagn. Lab. Immunol. - 2001. - Vol. 8, № 1. - P. 199-202.
7. Comer, J. A. Serologic testing for human granulocytic ehrlichiosis at a National Referral Center [Text] / J. A. Comer, W. L. Nicholson, J. G. Olson, J. E. Childs // J. Clin. Microbiol. - 1999. - Vol. 37, № 3. - P. 558-564.
8. Рап, В. А. Выявление антител к возбудителям гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека в крови пациентов из Новосибирской области [Текст] / В. А. Рап, Н. В. Фоменко, О. В. Мельникова, Н. Я. Черноусова. // Бюл. сибирской медицины. Приложение 1. Актуальные вопросы неврологии. – Новосибирск. - 2008. - С.73-77.
9. Заявка у 2010 04219 Україна, МПК<sup>7</sup> С12 N 1/20. Спосіб діагностики анаплазмозної інфекції шляхом виявлення антигену збудника в реакції непрямой іму-

нофлюоресценції (РНІФ) [Текст] / Похил С.І., Тимченко О.М., Чигиринська Н.А., Килипко Л.В., Семеренська Є.І., Костиця І.А., Козько В.М., Юрко К.В.; заявник: ДУ "ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України", Харків. нац. мед. унів-тет. – Дата подання заявки 12.04.2010.

10. Заявка у 2010 05597 Україна, МПК<sup>7</sup> С12 N 1/20. Спосіб діагностики анаплазмозної інфекції шляхом визначення рівня (титру) протианаплазмозних антигенів в реакції непрямой імунофлюоресценції (РНІФ) [Текст] / Похил С.І., Тимченко О.М., Чигиринська Н.А., Килипко Л.В., Семеренська Є.І., Костиця І.А., Круглова Т.А.; заявник: ДУ "ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України". – Дата подання заявки 11.05.2010.

11. Dawson, J. E. Diagnosis of human ehrlichiosis with the indirect fluorescent antibody test: kinetics and specificity [Text] / J. E. Dawson, D. B. Fishbein, T. R. Eng [et al] // J. Infect. Dis. – 1990. – Vol. 162. – P. 91-95

12. Dreher, U. M. Serologic cross-reactivity between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum* / U. M. Dreher, J. de la Fuente, R. Hofmann-Lehmann [et al] // Clin. Diagn. Lab. Immunol. – 2005. – Vol. 12, № 10. – P. 1177-1183.

13. Dumler, J. S. Serologic Cross-Reactions among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila*, and Human Granulocytic Ehrlichia [Text] / J. S. Dumler, K. M. Asanovich, J. S. Bakken, P. Richer, R. Kimsey, J. E. Madigan // J. Clin. Microbiol. - 1995. - Vol. 33, № 5. - P. 1098-1103.

14. Mitchell, P.D. Immunoserologic evidence of coinfection with *Borrelia burgdorferi*, *Babesia microti*, and human granulocytic Ehrlichia species in residents of Wisconsin and Minnesota [Text] / P. D. Mitchell, K. D. Reed, J. M. Hofkes // J. Clin. Microbiol. - 1996. - Vol. 34, № 3. - P. 724-727.

15. Olano, J. P. Clinical manifestations, epidemiology, and laboratory diagnosis of human monocytotropic ehrlichiosis in a commercial laboratory setting [Text] / J. P. Olano, W. Hogrefe, B. Seaton, D. H. Walker // Clin. Diagn. Lab. Immunol. -2003. - Vol. 10, № 5. - P. 891-896.

16. Park, J. Detection of antibodies to *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis* antigens in sera of Korean patients by western immunoblotting and indirect immunofluorescence assays [Text] / J. Park, E. Neo, K. Choi [et al] // Clin. Diagn. Lab. Immunol. - 2003. – Vol. 10, №6. – P. 1059-1064.

17. Пастер, Е. У. Иммунология : Практикум [Текст] / Е. У. Пастер, В. В. Овод, В. К. Позур, Н. Е. Вихоть. – К. : Вища шк. – 1989. - 304 с. : ил.

18. Лакин, Г. Ф. Биометрия [Текст] / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с. : ил.

19. Clarridge, J. E. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases [Text] J. E. Clarridge // Clin. Microbiol. Rew. - 2004. - Vol. 17, No. 4. - P. 840-862.

20. Dumler, J. S. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description of six new species combina-

tions and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila* [Text] / J. S. Dumler, A. F. Barbet, C. P. J. Bekker [et al.] // Intern. J. Sys. Evol. Microb. – 2001. – Vol. 51. – P. 2145-2165.

21. Похил, С.И. Биологические свойства адсорбированной и неадсорбированной ОН – агглютинирующих сывороток для идентификации бактерий *Rahnella aquatilis* [Текст] / С.И. Похил // Микробиол. журн. – 1998. – Т. 60, № 3. – С. 31-36.

**УДК 579.887.9:616.37-078**

#### **ПЕРЕХРЕСНІ РЕАКЦІЇ ПРИ ІМУНОДІАГНОСТИЦІ АНАПЛАЗМОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ МЕТОДОМ РНІФ**

**Похил С.І., Тимченко О.М., Лісняк Ю.В., Чигиринська Н.А., Костиця І.А., Круглова Т.А., Килипко Л.В.\* , Семеренська Є.І.\***

Для лабораторної діагностики анаплазмозної інфекції найбільш часто застосовуються імунологічні методи. Досліджена здатність анаплазмозного антигену і протианаплазмозних  $\gamma$ -глобулінів кролика, що входять до складу експериментальних РНІФ-тест-систем, вступати в перехресні імунологічні реакції із антигенами та антитілами філогенетично близьких до роду *Anaplasma* мікроорганізмами і збудників інших бактеріальних кліщових інфекцій: *Rickettsia prowazekii*, *R. sibirica*, *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *Brucella abortus*, *Francisella tularensis*, *Coxiella burnetii*. За певних умов анаплазмозний антиген може вступати в імунологічні реакції з антитілами проти *R. prowazekii*, *R. sibirica*, *B. henselae*, *B. abortus*, *F. tularensis*, а протианаплазмозні  $\gamma$ -глобуліни із антигеном *F. tularensis*. Проте, використання анаплазмозного антигену та протианаплазмозних  $\gamma$ -глобулінів за умови відтворення РНІФ у відповідності із інструкцією виробника, забезпечує достатньо якісний рівень лабораторної діагностики анаплазмозної інфекції.

**Ключові слова:** анаплазмоз, лабораторна діагностика, перехресні імунологічні реакції.

**УДК 579.887.9:616.37-078**

#### **ПЕРЕКРЕСТНІ РЕАКЦІЇ В ІМУНОДІАГНОСТИЦІ АНАПЛАЗМОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ МЕТОДОМ РНІФ**

**Похил С.И., Тимченко Е.Н., Лисняк Ю.В., Чигиринская Н.А., Костыря И.А., Круглова Т.А., Килипко Л.В.\* , Семеренская Е.И.\***

Для лабораторной диагностики анаплазмозной инфекции наиболее часто используются иммунологические методы. Исследована способность анаплазмозного антигена и противонаплазмозных  $\gamma$ -глобулинов кролика, которые входят в состав экспериментальных РНІФ-тест-систем, вступать в перекрестные иммунологические реакции с антигенами и антителами против филогенетически близких к роду *Anaplasma* микроорганизмов и возбудителей других бактериальных клещевых инфекций: *Rickettsia prowazekii*, *R. sibirica*, *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *Brucella abortus*, *Francisella*

*tularensis*, *Coxiella burnetii*. При определенных условиях анаплазмозный антиген может вступать в иммунологические реакции с антителами против *R. prowazekii*, *R. sibirica*, *B. henselae*, *B. abortus*, *F. tularensis*, а противоанаплазмозные  $\gamma$ -глобулины - с антигеном *F. tularensis*. Однако, использование анаплазмозного антигена и противоанаплазмозных  $\gamma$ -глобулинов при условии постановки РИИФ в соответствии с инструкцией производителя обеспечивает достаточно качественный уровень лабораторной диагностики анаплазмозной инфекции.

**Ключевые слова:** анаплазмоз, лабораторная диагностика, перекрестные иммунологические реакции.

**UDC 579.887.9:616.37-078**

**CROSS-REACTIONS IN THE IMMUNODIAGNOSTICS OF ANAPLASMOSIS BY THE RIIF METHOD**

**Pokhil S.I., Timchenko O.M., Lisnyk Yu.V., Chigirinska N.A., Kostirya I.A., Kruglova T.A., Kilipko L.V.\* , Semerenska E.I.\***

The immunological methods are the most often used for laboratory diagnostics of anaplasmosis. There has been studied the possibility of anaplasmosis antigen and rabbit anti-anaplasmic  $\gamma$ -globulins, contained in experimental RIIF-test-systems, to enter into immunological cross-reactions with correspondingly antigens of and antibodies against microorganisms, which are phylogenetically close to *Anaplasma* genus, and causative agents of other bacterial tick infections: *Rickettsia prowazekii*, *R. sibirica*, *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *Brucella abortus*, *Francisella tularensis*, *Coxiella burnetii*. Under certain conditions, the anaplasmic antigen can enter into immunological reactions with antibodies against *R. prowazekii*, *R. sibirica*, *B. henselae*, *B. abortus*, *F. tularensis*, and anti-anaplasmic  $\gamma$ -globulins can enter into immunological reactions with *F. tularensis* antigen. However, the use of anaplasmic antigen and anti-anaplasmic  $\gamma$ -globulins provides rather good quality level of laboratory diagnostics of anaplasmosis if RIIF is carried out in accordance with manufacturer's instructions.

**Key words:** anaplasmosis, laboratory diagnostics, immunological cross-reactions.