

# Возможности иммуноферментных методов диагностики ToРСН инфекций

**Голубева Ирина Федоровна**

**ООО «НПО «ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ»**

**Нижний Новгород**

**2017**

# TORCH

Toxoplasmosis

Other

Rubella

Cytomegalovirus

Herpes

Токсоплазма

Другие

Краснуха

Цитомегаловирус

Герпес



# Особенности TORCH инфекций:

- ✓ Пожизненная персистенция возбудителя в организме при отсутствии клинических проявлений заболевания
- ✓ Широкая распространенность среди всех групп населения
- ✓ Отсутствие характерной клинической симптоматики
- ✓ Обострение латентной инфекции при ослаблении защитных сил организма и снижении напряженности иммунитета (иммунокомпromетированные)
- ✓ Высокий риск трансплацентарной передачи в случае первичной инфекции во время беременности



# Группы риска

- ✓ Беременные
- ✓ Новорожденные при внутриутробном инфицировании
- ✓ ВИЧ-инфицированные
- ✓ Иммунокомпрометированные пациенты
- ✓ Реципиенты органов и тканей



# Зачем нужно тестирование

- Необходимо определять иммунный статус женщин детородного возраста. **При первичной инфекции риск инфицирования плода превышает 50%**
- Наблюдение за ВИЧ-инфицированными, т.к. возбудители оппортунистических инфекций нередко является причиной летального исхода при СПИДе
- Необходимо проводить мониторинг иммунокомпрометированных лиц во избежание обострения латентной инфекции
- Обследование доноров и реципиентов органов и тканей для исключения трансплантационной передачи.



# Частота ЦМВ-пневмонии у реципиентов органов

У 20 - 50% больных после аллогенной пересадки костного мозга, почек, печени и у 50 - 80% пациентов, перенесших трансплантацию легких и сердца, развивается манифестная ЦМВИ. ЦМВИ обостряет процессы, приводящие к реакции отторжения трансплантата и значительно повышает риск его гибели (*Rubin R., 1999; Константинов Б.А., 1994; Чеботкевич В.Н., 2002; Вое J, 2003*).

При аллогенной пересадке костного мозга интерстициальная пневмония развивается у 20 – 40% больных, в половине случаев ее причиной является ЦМВ-инфекция (*Thomas E, Pollard R., 1995; Rubin R., 1999; Чеботкевич В.Н., 2002*).

При трансплантации легких ЦМВ-пневмония диагностируется у 55 - 75% реципиентов, в случае пересадки органа от серопозитивного донора серонегативному реципиенту риск поражения легких составляет 85% (*Вое J, 2003*).





## Факторы риска развития раковых заболеваний

...

Факторами риска развития рака являются некоторые хронические инфекции, особенно в странах с низким и средним уровнем доходов. Канцерогенные инфекции, в том числе *Helicobacter pylori*, вирус папилломы человека (ВПЧ), вирус гепатита В, вирус гепатита С и вирус Эпштейна-Барр были названы причиной примерно 15% случаев рака, диагностированных в 2012 г.<sup>3</sup>.



# Методы лабораторной диагностики TORCH - инфекций

**Прямые (ДНК/РНК методом ПЦР);**

**Косвенные (чаще всего -- выявление специфических АТ методом ИФА, ИХЛА):**

**У матери:**

- При планировании беременности (Ig G)
- Скрининг во время беременности (Ig G и Ig M)
- Для подтверждения острой инфекции ( Ig M и Индекс авидности Ig G, метод парных сывороток).

**У плода**

- Выявление инфекции (возможно с 22 гестации по Ig M пуповинной крови)

**У новорожденного**

- Ig G дифференциация материнских и собственных Ig G методом парных сывороток



## Метод парных сывороток

Одномоментное исследование на АТ двух образцов сыворотки или плазмы пациента, взятых с интервалом в 2-3 недели. Позволяет:

1. Выявить сероконверсию (seroconversion) - выработка специфических антител в ответ на наличие какого-либо антигена
2. Прояснить результаты «серой зоны» при качественном анализе



# **Приказ МЗ РФ № 572н от 01.11. 2012 (в редакции 2016г.)**

Приказ МЗ РФ № 572н от 01.11. 2012 (в редакции 2014г.) Приказ № 808 отменен; № 50 вошел в действующий №572.

## **Базовый спектр обследования беременных женщин**

### **Диагностические мероприятия в стационарных условиях (в отделении патологии беременности)**

#### **I. Беременность физиологическая**

A1 - обследование в I триместре (и при первой явке)

кровь на IgG на краснуху, токсоплазму.



# Приказ МЗ РФ № 572н от 01.11. 2012 (в редакции 2016г.)

Приказ № 808 отменен; № 50 вошел в действующий № 572.

## II. Беременность патологическая

### **O26.2 Медицинская помощь женщине с привычным невынашиванием беременности**

- Определение Ig G, M к вирусу простого герпеса 1 и 2 типа, цитомегаловирусу, вирусу краснухи, токсоплазме.

**Герпес беременных**

### **O26.4 Герпес беременных**

4. Серологическая диагностика: **IgG, M, индекс авидности IgG.**

**Цитомегаловирусная инфекция**

### **B25. Цитомегаловирусная болезнь.**

4. Антитела к цитомегаловирусу (Ig G, M), индекс авидности IgG.

5. ИФА по показаниям.



## **Приказ МЗ РФ № 572н от 01.11. 2012 (в редакции 2016г.)**

**О98.5** Другие вирусные болезни, осложняющие беременность, деторождение или послеродовой период (вирус Эпштейна-Барра, парвовирус В 19)

**ИФА метод на IgG, IgM к вирусу Эпштейна-Барра, парвовирус В 19.**

3. При положительном результате анализ крови на ПЦР к ДНК вирусов

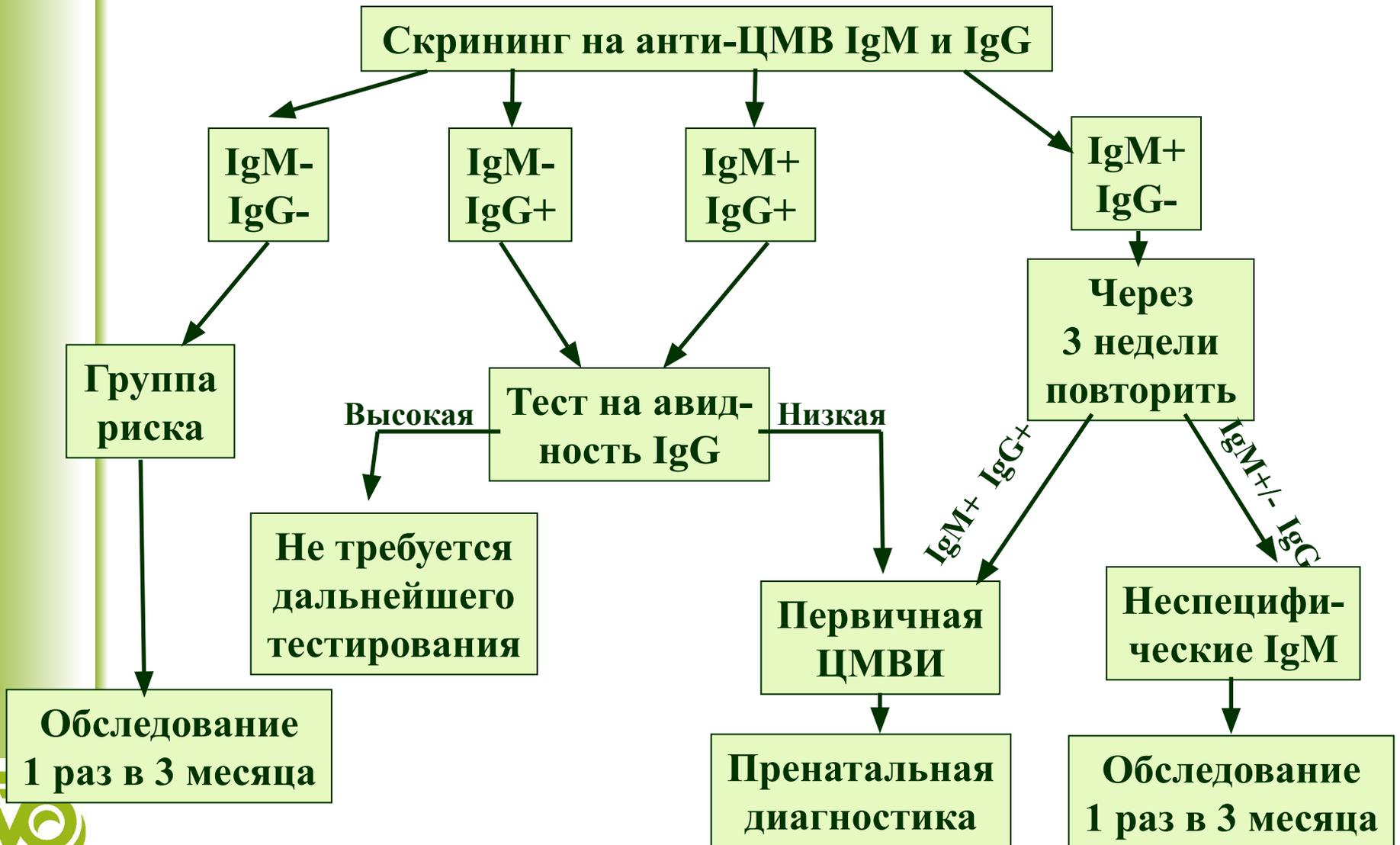
**О98.6** Протозойные инфекции, осложняющие беременность, деторождение или послеродовой период

**Токсоплазмоз:**

1. Обследование в соответствии с рубрикой А1, А2, А3.



# Схема обследования беременных женщин на ЦМВИ (Maine G.T., 2001)



## Иммуноглобулины IgM

- Образуются на ранних стадиях инфекционного процесса.
- могут находиться в крови длительное время: от 6 недель до 1-2 лет (TORCH-инфекции)
- элиминируют возбудителя из кровеносного русла
- не проникают через плаценту
- синтезируются у плода, относятся к собственным антителам новорожденных
- присутствие указывает на заражение (в том числе и внутриутробное), свидетельствует об активном процессе
- Определяются в крови при реактивации, реинфицировании или суперинфицировании.



# ВАЖНО!!!

При обнаружении **IgM**, даже при наличии высоких **IgG** у **беременных женщин** необходимо определить:

- время инфицирования: IgM при TORCH-инфекциях могут находиться в крови длительное время (от 6 недель до 1-2 лет).
- острая это инфекция или реактивация. При острой инфекции риск для плода несравненно больше, поскольку антитела матери не уничтожают инфекционный агент и он проникает через плаценту и поражает плод (при патологии плаценты).
- Исходя из полученных данных уже определяться с выводами о ведении данной беременности



# Иммуноглобулины IgA

IgAs участвует в местном иммунитете

- Синтез сывороточных IgA начинается с конца первого месяца заболевания и продолжается до тех пор, пока антиген доступен иммунокомпетентным клеткам
- обнаружение : острый или подострый процесс, реактивация и суперинфекция
- выявление показательно при диагностике врожденных форм инфекций, поскольку IgA не проходит через плаценту и нарабатывается в организме ребенка в ответ на воздействие инфекционного агента.



# ВАЖНО!!!

Наличие острой инфекции подтверждают:

- методом парных сывороток,
- определением индекса авидности (ИА),
- результатами ПЦР



## Иммуноглобулины IgG.

- играют основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях, вызывая гибель возбудителя с участием комплемента и опсонизируя фагоцитарные клетки
- IgG проникают через плаценту и формируют антиинфекционный иммунитет у новорожденных.

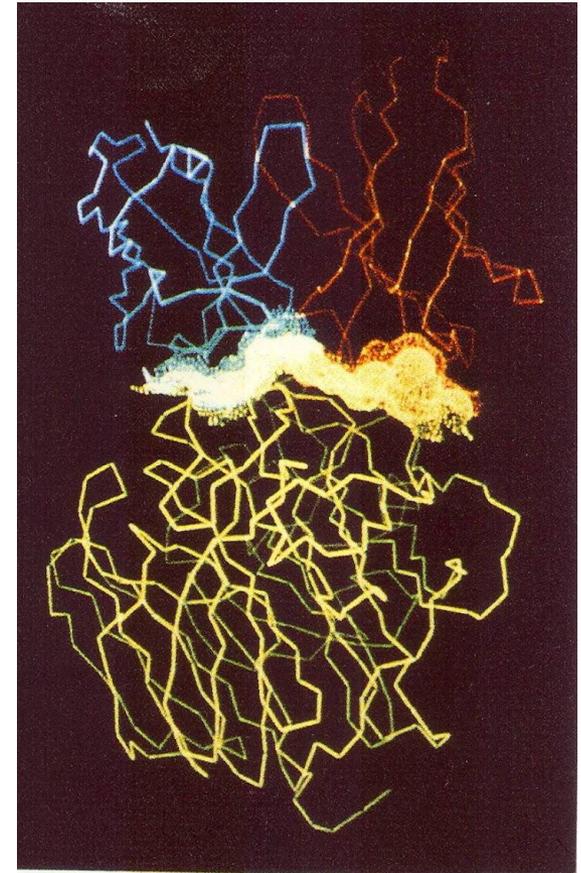
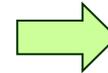
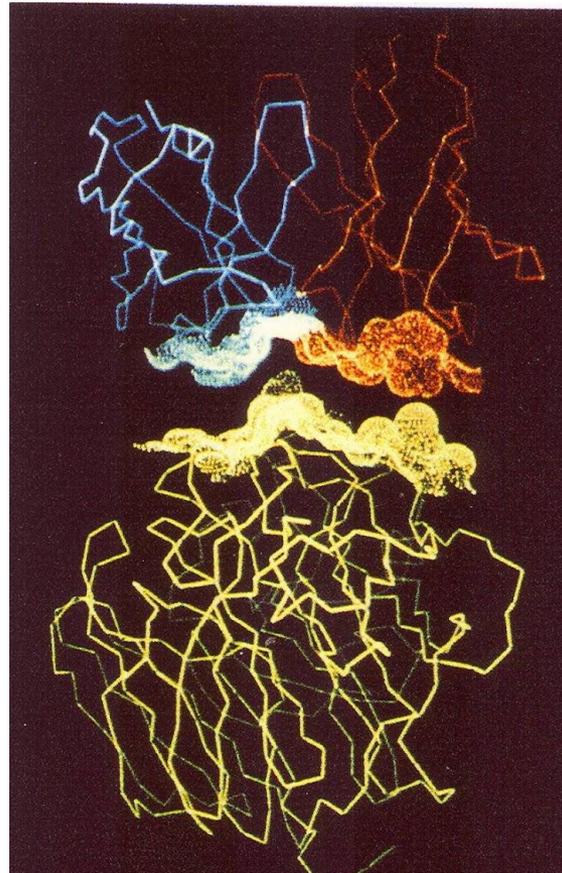


Атипичная динамика IgM  
Ограничивает традиционную  
серодиагностику острой фазы инфекции



## Базовые понятия ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АГ - АТ

Антитело

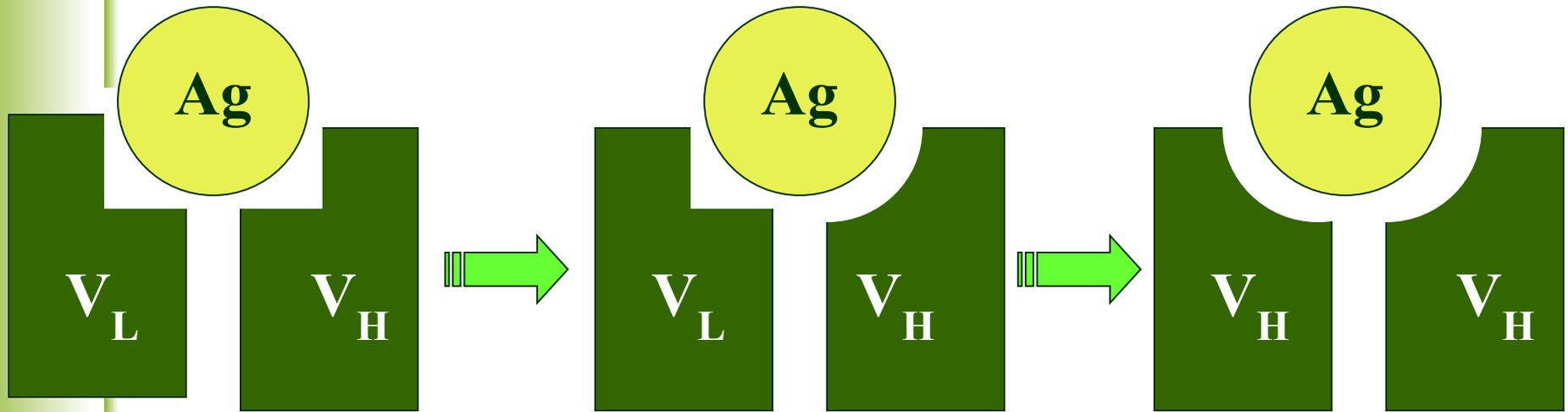


Антиген

- Пространственное соответствие (концепция ключ- замок)
- Слабые взаимодействия (водородные связи, электростатические, гидрофобные, силы Ван дер Ваальса)
- Обратимость



# Увеличение аффинности антител

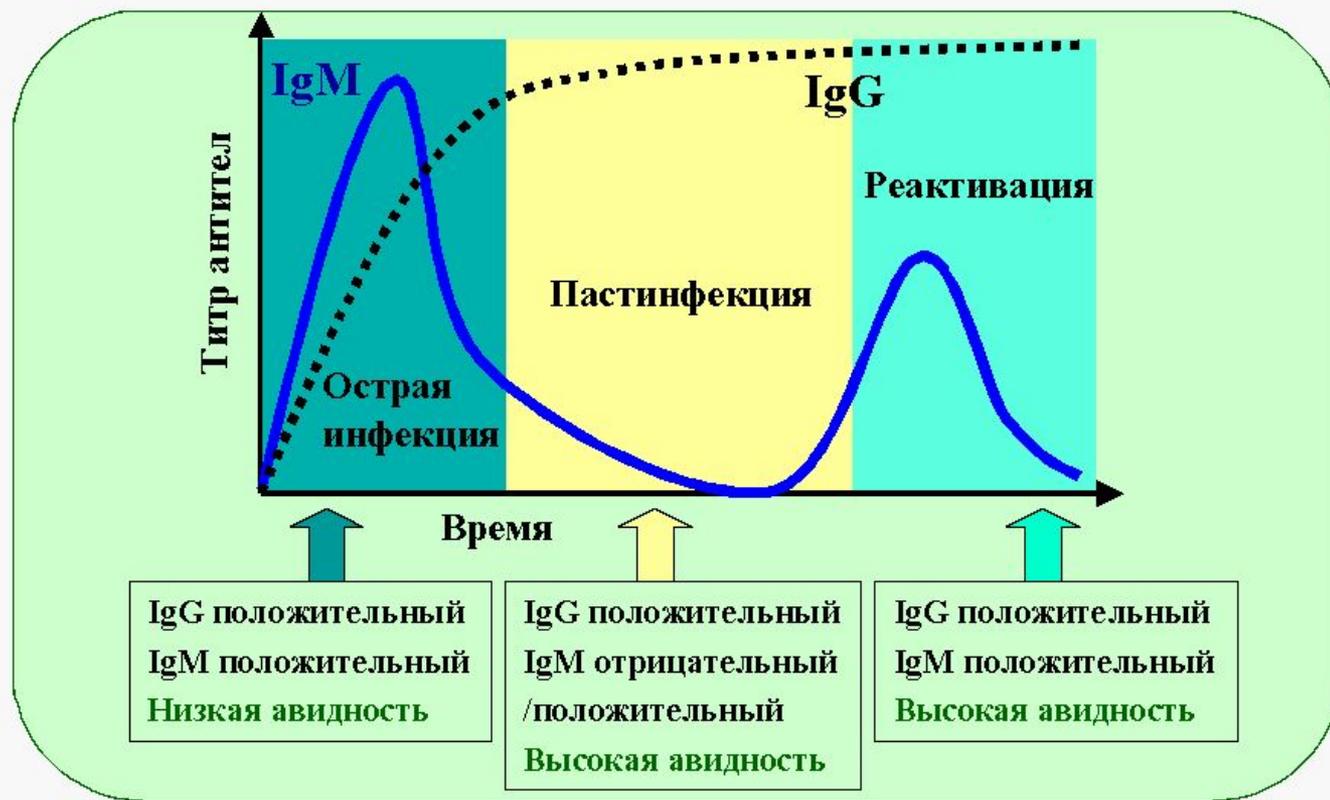


**Antibody affinity maturation**  
Pini et al. (1998) *J. Biol. Chem.* *273*, 21769-21776

Three stages of antibody affinity maturation are shown, each with a schematic and a 3D molecular model. The schematic shows the V<sub>L</sub> and V<sub>H</sub> domains (white boxes) and the Ag (white circle) binding to them. The 3D models show the protein structure (grey and yellow) and the Ag (green spheres) binding to the antibody. The first library shows a loose fit, the second library shows a better fit, and the third library shows a very tight fit.

1<sup>st</sup> library      2<sup>nd</sup> library      3<sup>rd</sup> library





IgG	IgM	Авидность	Диагноз
Отрицательный	Отрицательный		Нет инфекции
<b>Положительный</b>	<b>Положительный</b>	<b>Низкая</b>	Острая инфекция
<b>Положительный</b>	<b>Положительный</b>	<b>Высокая</b>	Реактивация
<b>Положительный</b>	Отрицательный	Высокая	Пастинфекция



## Определение индекса авидности по IgG:

- Позволяет дифференцировать первичную инфекцию и реактивацию: при первичной инфекции – низкоавидные антитела, при реактивации – высокоавидные
- Определить сроки возникновения инфекции
- Кроме того, наличие высокоавидных антител с положительными результатами на IgM помогает определить более щадящую врачебную тактику



# ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИЗКОАВИДНЫХ АНТИТЕЛ

- нетипичные сроки созревания антител  
(возрастные изменения, иммуносупрессия)
- использование в лечении препаратов крови
- интерферонотерапия



**ДС-ИФА-анти-ЦМВ-G**  
**ДС-ИФА-анти-ЦМВ-G авидность**  
**ДС-ИФА-анти-ЦМВ –M**  
**ДС-ИФА-анти-Токсо-G**  
**ДС-ИФА-анти-Токсо-G авидность**  
**ДС-ИФА-анти-Токсо -M**  
**ДС-ИФА-анти-Токсо-A**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1/2-G**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-2-G**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1/2-G-авидность**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-2-G-авидность**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-M**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-EA-G**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-NA-G**  
**ДС-ИФА-АНТИ-ВЭБ-VCA-G-авидность**  
**ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-G**  
**ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-M**  
**ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-G-авидность**



ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-G-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-M-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-G-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ТОКСО-M-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1-G-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1,2-G-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1-M-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-2-G-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-2-M-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-ВПГ-1,2-M-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-G-ЭКСПРЕСС  
ДС-ИФА-АНТИ-RUBELLA-M-ЭКСПРЕСС



*Благодарю за  
Внимание !!!*

