

С. Н. Дробченко<sup>1</sup>,  
канд. хим. наук

А. М. Савичева<sup>2</sup>,  
докт. мед. наук

Е. В. Шипицына<sup>3</sup>,  
канд. мед. наук

К. В. Шалепо<sup>3</sup>,  
канд. биол. наук

С. Б. Ткаченко<sup>3</sup>,  
канд. биол. наук

<sup>1</sup>ЗАО «Биоград», Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии  
им. Д. Отта, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Российская медицинская академия последипломного образования, Москва

## НОВАЯ МЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ДИАГНОСТИКИ TORCH-КОМПЛЕКСА

Разработана новая медицинская технология экспресс-диагностики TORCH-инфекций, основанная на применении унифицированной схемы анализа сыворотки, плазмы или цельной крови пациента для обнаружения маркеров широкого спектра врожденных инфекций. В технологии использованы бесприборные тесты ИммуноКомб, выполненные в оригинальном формате, позволяющие в короткое время без дополнительного оборудования проводить полноценный иммуноферментный анализ, используя в качестве твердой фазы поверхность гребня. Применение технологии позволяет определять наличие антител класса *IgM*, *IgA*, *IgG* к TORCH-инфекциям по единому плану.

### Методы

Новая медицинская технология экспресс-диагностики TORCH-инфекций основана на применении унифицированной схемы анализа сыворотки, плазмы или цельной крови пациента для обнаружения маркеров широкого спектра врожденных инфекций. Для ускорения лабораторных исследований и снижения расходов на оборудование были выбраны высокотехнологичные бесприборные тесты ИммуноКомб. Тесты ИммуноКомб сочетают достоинства классического иммуноферментного анализа (ИФА) — высокие специфичность и чувствительность — с простой и быстрой процедурой постановки анализа.

Тесты ИммуноКомб выполнены в оригинальном формате. Такой формат, с твердой фазой ИФА, расположенной на выступах-зубцах полимерного гребня, позволяет переносить твердую фазу между растворами необходимых реагентов. Результаты анализа проявляются в виде серо-голубых точек на зубцах гребня, при этом окраска формируется на твердой фазе и стабильна после остановки реакции. Формирование окраски на твердой фазе позволяет проводить визуальное считывание результатов или использовать для этого недорогой прибор КомбСкан, созданный на основе компьютерного сканера.

Тесты ИммуноКомб воспроизводят полноценный ИФА без использования оборудования. Чувствительность и специфичность их соответствуют показателям планшетного ИФА (ELISA), признанных международных производителей, в то время как чувствительность и специфичность иммунохроматографических экспресс-тестов значительно ниже планшетного ИФА (ELISA), что было подтверждено испытаниями ВОЗ и Государственными сравнительными испытаниями в Российской Федерации [5].

Технология ИммуноКомб разработана Парижским институтом Пастера (Франция), запатентована фирмой «Орженикс» и не имеет аналогов в мире. В технологии ИммуноКомб учтены особенности появления первых антител, которые отличаются от антител, по-

В 1971 г. ВОЗ объединила наиболее опасные врожденные инфекции в TORCH-комплекс группу внутриутробных инфекций, вызывающих стойкие структурные изменения плода [1]. Как правило, в группу TORCH-инфекций включают следующие заболевания: Т — токсоплазмоз (toxoplasmosis), О — другие инфекции (others), R — краснуху (rubella), С — цитомегаловирусную инфекцию (cytomegalovirus), Н — герпес (herpes simplex virus). В «другие инфекции» (О — others) включают такие влияющие на плод инфекции, как хламидиоз и гепатиты В и С [2]. Недавно в этот перечень была включена и ВИЧ-инфекция [3,4].

Опасность первичного заражения TORCH-инфекциями в период беременности состоит в том, что, протекая бессимптомно, они могут оказывать пагубное действие на все системы и органы плода, особенно на его центральную нервную систему, повышают риск выкидыша, мертворождения и врожденных уродств ребенка, формирования пороков его развития, вплоть до инвалидности.

Цель работы — разработка медицинской технологии для достоверной экспресс-диагностики TORCH-инфекций, позволяющей дифференцировать разные фазы заболеваний.

лученных позднее, во время задержанного иммунного ответа (разные изотипы синтезированных антител, различная аффинность и авидность, направленность на разные эпитопы антигенов). Разработаны и подобраны модификации ИФА, обеспечивающие достоверное выявление конкретной инфекции: непрямой метод твердофазного ИФА использован для выявления *IgG*- и *IgA*-антител к *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia pneumoniae*, *IgG* и *IgM* к токсоплазме, цитомегаловирусу, вирусу краснухи, гепатита *C*, *IgG*-антител к ядерному антигену вируса гепатита *B*, антител к ВИЧ I и II типа; «сэндвич»-вариант применен для определения поверхностного антигена вируса гепатита *B*; метод двойного распознавания выбран для выявления *IgM*-антител к ядерному антигену вируса гепатита *B*; метод иммунного захвата оптимален для обнаружения *IgG* и *IgM* к вирусу гепатита *A*. На твердую фазу — гребень иммобилизованы инактивированные антигены или антитела, подвергнутые дополнительным патентованным методам очистки. Это позволяет избежать перекрестных реакций, отследить появление первых антител и выявить раннюю стадию заболевания. Для обеспечения высокой чувствительности тестов ИммуноКомб применяют реакцию связывания с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата. Французское агентство по контролю за медикаментами (ADA), оценивая тесты, разрешенные для использования в клиниках Европы, подчеркивает, что использование фосфатазно-щелочного конъюгата позволяет достичь наиболее высокой чувствительности по сравнению с тестами, основанными на пероксидазной реакции. Большинство иммуоферментных планшетных тест-систем российских производителей основано на пероксидазной реакции.

Методика не требует дополнительного оборудования, ИммуноКомб содержит все необходимые для проведения анализа реагенты. В состав ИммуноКомб входит три пластиковых гребня с нанесенными антигенами или антителами, являющихся твердой фазой, три проявочные ванны, заполненные всеми необходимыми реагентами, положительный и отрицательный контроли. В состав наборов для визуального количественного определения титра антител входит цветная шкала КомбСкейл.

Одинаковая компоновка набора реагентов ИммуноКомб позволяет проводить анализ по единому плану для всех выявляемых инфекций. В зависимости от инфекции варьируется количество исследуемого образца, длительность и температура инкубации.

При проведении анализа сыворотку, плазму или цельную кровь (10–50 мкл в зависимости от выявляемой инфекции) человека вносят в ячейки ряда А проявочной ванны и приводят ее в контакт с твердой фазой — гребнем. Затем гребень переносят в ряд проявочной ванны и через 40 мин получают резуль-

тат в виде окрашенных точек. Результат учитывают визуально или автоматизированно на приборе КомбСкан. При визуальном учете уровень видоспецифических антител оценивается с помощью калибровочной шкалы КомбСкейл. В тесте предусмотрен внутренний контроль (верхняя точка), подтверждающий достоверность проведенного анализа и сохранность реагентов во время транспортировки и хранения.

Все наборы ИммуноКомб рассчитаны на 36 определений. Для индивидуального тестирования гребень можно согнуть и отломить необходимое количество зубцов. При этом в проявочной ванне вскрывается только необходимое количество ячеек (соответствующее числу зубцов). Невскрытые ячейки и неиспользованные зубцы хранятся в течение срока годности тест-системы.

## Результаты и обсуждение

Новая медицинская технология «Быстрые простые методы в диагностике заболеваний TORCH-комплекса», основанная на применении ИФА БПТ ИммуноКомб, зарегистрирована Минздравсоцразвития (рег. № ФС-2006/002) [6].

При скрининге на TORCH-инфекции с помощью тестов ИммуноКомб возможно проведение анализа образцов на наличие антител класса *IgM*, *IgA*, *IgG* к соответствующему возбудителю, в том числе количественных анализов на наличие антител класса *IgG*. Для уточнения стадии заболевания анализируются парные сыворотки. Наличие низких уровней *IgG* к возбудителю в сыворотке человека должно рассматриваться как ранее перенесенная инфекция или проведенная терапия антибиотиками (антитела в крови могут сохраняться до 3–6 мес после излечения). Существенное нарастание титра антител класса *G* в парных сыворотках (в 4–8 раз от первоначального уровня) свидетельствует об активной фазе инфекции. В этом случае следует провести параллельное исследование на наличие антител класса *M* или *A*. Высокий уровень антител класса *M* или *A* подтверждает активное течение инфекции или рецидив заболевания. Чтобы исключить инфекцию или своевременно начать лечение новорожденных от матерей, инфицированных во время беременности заболеваниями TORCH-комплекса, их обследуют с помощью тестов ИммуноКомб. Материнские *IgG*-антитела передаются плоду уже с 12–16-й недели, тогда как материнские *IgM*-антитела обычно через плаценту не проходят. В тех случаях, когда произошло внутриутробное инфицирование, у зараженного плода, наряду с появлением материнских *IgG*-антител, на 16–24-й неделе развития начинают вырабатываться собственные вирусспецифические *IgM*-антитела. Таким образом, обнаружение специфических *IgM*-антител у новорожденных позволяет диагностировать внутриутробное ин-

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

фицирование. Пассивные материнские *IgG*-антитела, переданные плоду, исчезают в течение 6–10 мес после рождения. Образование собственных *IgG*-антител у внутриутробно инфицированного ребенка обычно начинается со второй половины первого года жизни и продолжается до 3–4 лет. Поэтому последовательный контроль уровня антител класса *G* у новорожденного помогает отличить внутриутробное заражение (постоянный уровень, плато) от послеродовой инфекции (увеличение титра).

## Выводы

Применение тестов ИммуноКомб позволяет диагностировать заболевание TORCH-комплекса на ранней стадии и своевременно назначить адекватное лечение.

Данную технологию можно использовать во всех лечебно-профилактических учреждениях стационарного и амбулаторно-поликлинического типа, включая первичное звено здравоохранения.

## Литература

1. *Kinney J. S., Kumar M. L.* Should we expand the TORCH complex? A description of clinical and diagnostic aspects of selected old and new agents//Clin. Perinatol. 1988. № 15. P. 727–744.
2. *Imura S.* TORCH complex//Ryoikibetsu Shokogun Shirizu. 2000. № 30. P. 462–4656.
3. *Gerber S., Hohfeld P.* Screening for infectious diseases. Child's Nervous System.: Springer-Verlag GmbH, 2003. Vol. 19. № 7–8. P. 429–432.
4. *Клинико-организационное руководство* по профилактике передачи ВИЧ-инфекции от матери к ребенку: Проект «Мать и дитя», 1-е изд. М., 2005.
5. *Голиусов А.Т., Воробьева М.С., Михайлов М.И. и др.* Быстрые и простые методы определения вирусных инфекций в лабораторной службе России: Метод. рекомендации/Под ред. В. В. Покровского. М., 2004. С. 22–58.
6. *Ткаченко С. Б., Савичева А. М., Шпицына Е. В. и др.* Быстрые простые методы в диагностике TORCH-комплекса: Практич. рук. для врачей. М., 2006.