СПБ ГУЗ «Городской диагностический центр (вирусологический)» Экспертная лаборатория МЗ РФ

Семенов А.В.
Вашукова С.С.

Лабораторная диагностика внутриутробных инфекций

Методические рекомендации

Алкор Био
НОВЕЙШАЯ ИСТОРИЯ СИСТЕМ

Санкт-Петербург
2008г

Алкор Био

Ведущий производитель
наборов реагентов для ИФА в России

В каждую лабораторию. Для каждого пациента
Современные высококачественные надежные тест-системы

Наборы реагентов для ИФА:
- диагностика функций щитовидной железы
- аллергодиагностика
- диагностика TORCH-инфекций
- диагностика хламидиозов
- диагностика гепатита С
- онкомаркеры
- пренатальный скрининг
- диагностика репродуктивной функции
- диагностика функций надпочечников
- диагностика анемии
- неонатальный скрининг

Наборы реагентов для ПЦР:
- диагностика предрасположенности к остеопорозу

Программные продукты:
- программа "ИФА Мастер"
- программный комплекс "Пренатальный скрининг синдрома Дауна"

Эксклюзивный поставщик автоматического иммуноферментного анализатора "Allsel Q.S.".

Регистрационные удостоверения на все наименования выпускаемой продукции

CE-маркировка на тест-системы - соответствие требованиям Евросоюза по Безопасности

Международный сертификат ISO 9001-2000

Высокая чувствительность

Все реагенты полностью готовы к использованию

Оптимальное время анализа

Длительный срок хранения наборов

197110, Санкт-Петербург, а/я 243
Тел.: (812) 596 6776, 596 6778, 596 6779, тел./факс (812) 596 6780
alkorbio@peterlink.ru, www.alkorbio.ru

СПБ ГУЗ «Городской диагностический центр (вирусологический)» Экспертная лаборатория МЗ РФ

Семенов А.В. Вашукова С.С.

Лабораторная диагностика внутриутробных инфекций

Методические рекомендации

Санкт-Петербург
2008 г.

Семенов А.В., Вашукова С.С. Лабораторная диагностика внутриутробных инфекций/Методические рекомендации. - 2008. - 79 с.

СПБ ГУЗ «Городской диагностический центр (вирусологический)»
Экспертная лаборатория МЗ РФ

Широкая циркуляция среди населения возбудителей, способных вызывать внутриутробное инфицирование плода, тяжелые последствия для акушерского анамнеза, отдаленные последствия для развития ребенка продолжают оставаться серьезной проблемой для современной медицины.

В данном издании освещены особенности и методы лабораторной диагностики заболеваний, входящие в комплекс TORCH-инфекций. Подробно рассмотрены алгоритмы обследования пациентов и интерпретация полученных результатов. Особое внимание уделено определению авидности иммуноглобулинов класса G и её роли при постановке диагноза.

Методические рекомендации предназначены в помощь врачам клинической лабораторной диагностики, врачам акушерам-гинекологам, врачам-инфекционистам и врачам других специальностей.

Авторы:

Семенов А.В., кандидат медицинских наук, зам. главного врача СПБ ГУЗ «Городской консультативный диагностический центр (вирусологический)», доцент кафедры клинической диагностики СПб МАПО.

Вашукова С.С., кандидат медицинских наук, главный врач СПБ ГУЗ «Городской консультативный диагностический центр (вирусологический)».

© Издательство ООО «Светлица»
© Верстка «Mirada viva»
© Дизайн ООО «Алкор Био»

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение..... 7

Методы лабораторной диагностики TORCH-инфекций..... 8

Авидность IgG антител..... 11

Принципы лабораторной диагностики TORCH-инфекций 14

Группы лиц, подлежащие обследованию на TORCH-инфекции 15

Краснуха..... 15

Пренатальный скрининг здоровых беременных женщин на краснуху..... 20

Алгоритм тестирования сывороток крови здоровых беременных женщин на краснуху..... 21

Алгоритм тестирования беременной женщины при контакте ее с больным краснухой..... 22

Токсоплазмоз..... 28

Современный алгоритм ИФА-диагностики токсоплазмоза..... 34

Цитомегаловирусная инфекция..... 39

Герпетическая инфекция..... 47

Выводы..... 51

Схематическая интерпретация результатов лабораторной диагностики ВУИ методом ИФА..... 53

Список литературы 54

Приложение 1. Приказ №50 от 10.02.2003..... 59

Приложение 2. Инструкция к наборам реагентов для диагностики TORCH-инфекций методом ИФА..... 64

Лабораторная диагностика внутриутробных инфекций

Введение

Широкая циркуляция среди населения возбудителей, способных вызывать внутриутробное инфицирование плода, тяжелые последствия для акушерского анамнеза, отдаленные последствия для развития ребенка продолжают оставаться серьезной проблемой для современной медицины, несмотря на очевидные успехи, достигнутые в последние десятилетия.

Начиная с 1971 года, Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) выделила целый ряд врожденных инфекций, вызывающих стойкие структурные изменения плода при внутриутробном инфицировании в отдельный комплекс, куда вошли вирусные, грибковые, протозойные и бактериальные инфекции. Этот комплекс получил название TORCH-инфекции по 4 основным возбудителям:

T – Toxoplasmosis (токсоплазма),

O – Others (другие: парвовирус, энтеровирус, вирусы гепатита B, C, ВИЧ и др.)

R – Rubella (краснуха)

C – Cytomegalovirus(цитомегаловирус)

H – Herpes simplex virus (вирус простого герпеса 1/2 типов)

С развитием инфектологии, акушерства и гинекологии, бактериологии и вирусологии этот список инфекций значительно расширился. Теперь в группу O (Others – другие) включают хламидийную инфекцию, сифилис, листериоз, парвовирус B-19, энтеровирус Коксаки B, папилломавирусы, аренавирусы (возбудитель ЛХМ), а также ВИЧ-инфекцию, гепатиты B и C, которые, однако, имеют характерные клинические проявления, отличные от типичной клиники ВУИ.

Возбудители TORCH-комплекса были объединены в одну группу по следующим причинам:

1) Трансплацентарное заражение плода при первичной инфекции вследствие естественного (вызванного беременностью) снижения иммунитета;

2) Зависимость тяжести тератогенного эффекта от срока беремен-

ности (гестации плода)

3) Сходные клинические проявления при внутриутробном инфицировании новорожденных детей.

4) Сходные принципы лабораторной диагностики.

Таким образом, одной из существенных особенностей инфекционного процесса TORCH-комплекса является то, что первичное заражение либо реактивация латентной инфекции, протекающие зачастую бессимптомно, во время беременности, особенно на ранних сроках, способны вызвать повышение риска выкидыша, мертворождения, появление врожденных уродств и пороков развития плода, приводящие к инвалидизации ребенка либо, в наиболее тяжелых случаях, несовместимые с жизнью.

Сходные клинические проявления ВУИ у новорожденных практически исключают возможность постановки диагноза только на основании клинической картины, в связи, с чем возрастает роль лабораторных исследований, особенно специфической лабораторной диагностики с целью максимально быстрой постановки диагноза.

Методы лабораторной диагностики TORCH-инфекций

Для диагностики ВУИ используются почти все методы клинической лабораторной диагностики: выделение возбудителя на культурах ткани, различные модификации микроскопического анализа (нативные препараты, окрашенные препараты, методы прямой и непрямой иммунофлуоресценции), определение специфических антител или антигенов возбудителя (РСК, РНГА, ИФА, ХЛИА, иммуноблот), молекулярно-биологические методы детекции (ПЦР, NASBA, LCR, TMA, SDA).

Каждый из перечисленных методов имеет свои достоинства и недостатки, свою диагностическую ценность. Для наиболее трудоемких методов, таких как культивирование возбудителя или молекулярно-биологические методы детекции, требуется дополнительное оборудование и повышенные требования к квалификации лабораторного персонала и лабораторным помещениям. С другой стороны, выделение возбудителя – признанный «золотой» стандарт лабораторной диагностики, а высочайшая чувствительность и специфичность методов молекулярной диагностики позволяют определять минимальные количества биологического материала в клиническом материале в течение нескольких часов.

Микроскопические техники, при всех достоинствах метода прямого определения возбудителя в биологическом материале, не обладают высокой чувствительностью, требуют высокой квалификации врача-лаборанта, поскольку интерпретация результатов зависит от субъективной оценки специалиста, проводящего анализ. Кроме того крайне важное значение приобретает преаналитический этап исследования (забор материала), поскольку некачественно или плохо взятый материал делают невозможным корректное проведение микроскопического исследования.

Основанная на определении серологических маркеров в крови методом иммуноферментного анализа (ИФА), хемилюминесцентного иммунометрического анализа (ХЛИА) и другими иммунологическими методами, лабораторная диагностика достаточно проста и крайне важна для профилактики ВУИ у беременных: по результатам исследования сыворотки на специфические *IgG* и *IgM* антитела можно установить иммунный статус женщины в отношении ВУИ и прогнозировать группу и степень риска. Метод ИФА, на сегодняшний день, является единственным скрининговым методом, позволяющим обследовать большие группы населения для определения риска инфицирования ВУИ и состояния поствакцинального иммунитета.

Наилучший результат дает комплексное применение нескольких подходов, сочетающих в себе как методы прямого определения инфекционного агента (ПЦР, микроскопия, культивирование), так определение специфических антител к нему (ИФА, ИБ).

Несмотря на высокую информативность получаемых результатов, врачам зачастую непросто ориентироваться в лабораторных данных. Вследствие этого представлялось целесообразным поделиться накопленным опытом по тактике диагностики ВУИ и

интерпретации полученных результатов.

Известно, что наличие в крови специфических *IgM* антител, вне зависимости от их уровня, свидетельствует об острой инфекции, *IgG* – о текущем или перенесенном заболевании (анамнестические антитела). В последнем случае уровень их, как правило, невысок. В типичных случаях, в разгар заболевания, в сыворотке крови пациента присутствуют оба типа антител – *IgG* и *IgM*. Причем, *IgM* появляются уже в инкубационном периоде или в первые дни болезни, опережая образование *IgG*. Однако *IgM* антитела быстро исчезают из крови – через 1-3 месяца в зависимости от инфекции: при краснухе быстрее – через 1-1,5 месяца, при токсоплазмозе – медленнее, через 2-3 месяца после начала заболевания. Напротив, специфические *IgG* антитела после перенесенной инфекции остаются в крови пожизненно, маркируя стадию иммунитета (краснуха) или указывая на инфицированность и присутствие возбудителя в организме (цитомегалия, герпес).

При этом надо помнить, что в связи с различной динамикой появления специфических антител классов G и M и разным их уровнем на отдельных этапах болезни, достоверный лабораторный диагноз может быть поставлен только при одновременном исследовании сыворотки пациента на оба маркера – *IgM* и *IgG* антитела к TORCH-возбудителям.

У новорожденных детей *IgG*-антитела в крови имеют, как правило, материнское происхождение. В то же время материнские *IgM* антитела через плаценту не проникают, поэтому присутствие в крови новорожденного специфических *IgM*, образование которых отмечается у плода, начиная с 14 недели развития, свидетельствуют о врожденной инфекции.

При хронизации инфекции, ее латентном течении или реинфицировании в крови больного могут не определяться *IgM* антитела (особенно это характерно для герпетических инфекций), но это не является свидетельством отсутствия размножения возбудителя или перехода латентной фазы в реактивацию. С другой стороны, *IgM* антитела могут циркулировать в крови на протяжении нескольких

месяцев, как уже было сказано выше, а в случае иммуносупрессивного состояния пациента и до двух лет, хотя острая стадия инфекции уже завершилась и возбудитель элиминирован из организма. В таком случае для разграничения стадийности течения инфекции полезно применять ИФА с определением индекса авидности *IgG* антител.

Авидность IgG антител

В процессе развития иммунного ответа организма на внедрение инфекционного агента важная роль принадлежит гуморальной составляющей иммунитета. Процесс развития гуморального иммунитета имеет определенную стадийность и сопровождается выработкой антител первичного ответа (антитела класса *IgM*), которые впоследствии заменяются на антитела сформированного иммунного ответа (антитела класса *IgG*).

Важной характеристикой выраженности антительного ответа является количественная оценка уровня антител в сыворотке крови, обычно выражаемая в условных единицах (ME (IU) – международная единица, OE (RU) – относительная единица) в миллилитре исследуемого субстрата. Большинство современных иммуноферментных систем позволяют проводить не только качественное, но и количественное определение содержания антител к возбудителям ВУИ.

Но это не единственный параметр, по которому можно оценить эффективность гуморального ответа иммунной системы. Важно оценить не только количество антител, вырабатываемых против определенных антигенов возбудителя, но и определить эффективность (силу) этого ответа, которая возрастает в ходе развития инфекционного процесса. Параметром, с помощью которого производится такая оценка, является индекс авидности.

Авидность – сила связывания специфических антител с молекулой антигена, против которого направлено это антитело. Авидность зависит от аффинитета связывания, т.е. от степени стереохимического соответствия трехмерной структуры моновалентного гаптена

белка антигена (или по-другому – антигенной детерминанты белка) и связывающегося с ним участка молекулы антитела по принципу «ключ-замок». Однако на поверхности любого вирусного или бактериального белка всегда находится несколько антигенных детерминант. Поэтому в поликлональной и поливалентной сыворотке, которая образуется в организме человека при инфекционном заболевании, находится целый спектр антител с разной аффинностью к различным антигенным детерминантам.

Совокупный аффинитет всех антител к одной антигенной детерминанте образует авидность сыворотки к этой антигенной детерминанте. Соответственно, чем выше афинность антител, тем больше авидность их взаимодействия с антигеном.

В результате взаимодействия антиген-антитело между молекулами образуется нековалентная связь (за счет водородных связей, электростатических, Ван-дер-ваальсовых и гидрофобных взаимодействий). Поскольку эта связь нековалентная, то она может быть разрушена сильным ионным детергентом. Чаще всего для этих целей используют раствор мочевины, заранее определенной молярности, подобранной опытным путем. При такой обработке связавшихся комплексов антиген-антитело, комплексы низкоафинных антител диссоциируют, а высокоафинные антитела остаются связанным с антигеном.

Первоначально, при первичной презентации антигена, вырабатываются низкоаффинные антитела с небольшой авидностью (силой связывания), по мере формирования иммунного ответа, начинается выработка более аффинных антител, связывающихся с антигеном с большей авидностью. Таким образом, оценив содержание низкоавидных и высокоавидных антител в сыворотке пациента, можно получить информацию о завершенности гуморального иммунного ответа и отдифференцировать раннюю стадию первичной инфекции от ее завершения.

Авидность связывания выражают относительной процентной величиной, называемой Индексом Авидности (ИА). ИА для любого сайта связывания антигена выражается как отношение числа

высокоафинных антител позднего иммунного ответа к общему числу образовавшихся антител.

$$ИА = \frac{\text{Высокоафинные антитела}}{\text{Общее число антител}} \times 100\%$$

При постановке ИФА для определения ИА сыворотки вносятся в лунки полистирольного планшета с сорбированным на дне лунок антигеном в виде параллельных проб в двух рядах лунок. После инкубации сыворотки удаляют, планшет промывают буферным раствором и в один параллельный ряд вносят реагент для диссоциации (раствор мочевины), а другой ряд заполняют буферным раствором и используют для определения общего числа связавшихся с антигеном антител.

По окончанию ИФА определяют ИА как отношение оптической плотности (ОП) в лунке, обработанной раствором для диссоциации, к ОП в лунке без обработки:

$$ИА = \frac{\text{ОП лунки инкубированной с реагентом для диссоциации}}{\text{ОП лунки инкубированной с буферным раствором}} \times 100\%$$

Пороговые значения ИА устанавливаются фирмой-производителем тест-систем. Например, один из ведущих отечественных производителей ИФА тест-систем – ООО «Компания Алкор Био» устанавливает следующие граничные значения для определения ИА в наборах для определения авидности *IgG* антител к возбудителям краснухи, токсоплазмоза и цитомегаловирусной инфекции:

Для краснухи:

ИА > 60% - образец содержит высокоавидные антитела класса *IgG* к краснухе
ИА - 40-60% - образец содержит антитела класса *IgG* неопределенной (промежуточной) авидности к краснухе
ИА < 40% - образец содержит низкоавидные антитела класса *IgG* к краснухе

Для токсоплазмоза:

ИА > 30% - образец содержит высокоавидные антитела класса *IgG* к T. gondii
ИА - 20-30% - образец содержит антитела класса *IgG* неопределенной (промежуточной) авидности к T. gondii
ИА < 30% - образец содержит низкоавидные антитела класса *IgG* к T. gondii

Для цитомегаловирусной инфекции:

ИА > 45% - образец содержит высокоавидные антитела класса *IgG* к ЦМВ
ИА - 35-45% - образец содержит антитела класса *IgG* неопределенной (промежуточной) авидности к ЦМВ
ИА < 35% - образец содержит низкоавидные антитела класса *IgG* к ЦМВ

Принципы лабораторной диагностики TORCH-инфекций

Основополагающие принципы лабораторной диагностики, позволяющие получить наиболее информативный и достоверный ответ, могут быть сформулированы следующим образом:

1. Одновременное тестирование сыворотки на весь комплекс TORCH-инфекций (токсоплазмоз, краснуха, цитомегалия, герпес и др.)
2. Одновременное определение в сыворотке *IgG* и *IgM* антител
3. Применение количественных методов определения антител *IgG* антител
4. Определение *IgM* антител с использованием технологии μ-capture (*IgM*-захвата)
5. Использование теста на авидность *IgG* антител

Особенно следует подчеркнуть, что качественная лабораторная диагностика, соответствующая современным мировым стандартам, должна сочетать в себе все вышеуказанные принципы одновременно.

Из диагностических систем открытого планшетного формата, разрешенных к применению для обследования на TORCH-инфекции на территории Российской Федерации, всем этим требованиям соответствуют тест-системы «Radim Diagnostics» (Италия) и ООО «Компания Алкор Био» (Россия).

Группы лиц, подлежащие обследованию на TORCH-инфекции

1. Женщины, планирующие беременность
2. Здоровые беременные женщины с целью выявления риска инфицирования
3. Беременные женщины с подозрением на инфицирование (в т.ч. по контакту)
4. Новорожденные дети с клиническими проявлениями внутриутробной инфекции (ВУИ)

Обследование беременных и родильниц в государственных медучреждениях регламентируется Приказом № 50 Минздрава РФ от 10.02.2003. Отдельные положения из этого приказа приведены в конце настоящего издания. Следует особо обратить внимание на увеличение кратности обследования женщин с отягощенным акушерским анамнезом (см. Приложение № 2 к Приказу № 50 МЗ РФ от 10.02.2003).

Краснуха

Краснушная инфекция распространена и актуальна во всем мире, особенно в странах, в которых не проводится вакцинация против краснухи. Возбудитель заболевания – РНК содержащий вирус, принадлежащий к семейству Togaviridae.

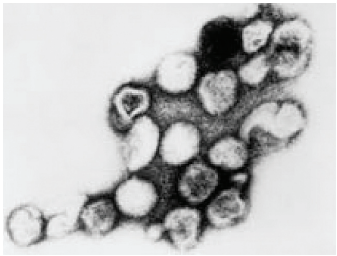


Рис. 1 Вирус краснухи (фото CDC)

Краснуха относится к воздушно-капельным антропонозным вирусным инфекциям, оставляющим после себя пожизненный иммунитет. Наибольшая частота заболеваний регистрируется в возрастной группе от 4 до 15 лет, при этом абсолютное большинство случаев (по некоторым данным – до 90%) заболевания

протекает без видимых симптомов. Ежегодно в России регистрируется от 150 до 450 тысяч случаев заболевания краснухой, каждый четвертый из них приходится на возрастную группу старше 15 лет.

Однако, по данным отечественной литературы, от 20 до 40% женщин детородного возраста (в зависимости от региона) не имеют антител к этому возбудителю, что формирует огромную группу риска по внутриутробному инфицированию краснухой.

Вирус краснухи относится к тератогенным возбудителям, способным преодолевать плаценту и поражать плод. Заражение неиммунной беременной женщины приводит к репликации вируса в плаценте, инфицированию и диссеминированному размножению вируса в тканях плода.

Риск развития внутриутробной инфекции зависит от срока беременности. Чем раньше произошло инфицирование, тем больше риск и тем тяжелее будут последствия.

Срок беременности (недель)	Риск инфицирования %
0 - 10	90-95
10-12	30-35
13-14	20-25
15-16	10-15
16-40	3-6

Особенно тяжелые последствия наблюдаются при инфицировании в первые 10 недель беременности, на стадии органогенеза, затем вероятность развития ВУИ резко снижается, равно как и степень тяжести поражения органов и систем органов. Следует учитывать, что при инфицировании на любом сроке беременности происходит поражение плаценты, что нарушает полноценность питания плода.

Результатом может быть мертворождение, выкидыш или формирование синдрома врожденной краснухи, сопровождающегося аномалиями развития плода с тяжелыми последствиями: глухота, катаракта, врожденные пороки сердца, умственная отсталость и т.п. (особенно при инфицировании в первом триместре беременности). Эта картина может быть дополнена пренатальной и постнатальной

задержкой роста и широким спектром дополнительных нарушений (тромбоцитопеническая пурпура, гепатоспленомегалия, миокардит, пневмония и т.п.), которые могут проявляться в раннем постнатальном периоде. Причем новорожденные с врожденной краснушной инфекцией заразны, достаточно долго могут секретировать вирус в течение всего первого года жизни (до 18 месяцев) и контакт с такими детьми представляет риск для окружающих восприимчивых лиц, включая беременных женщин.

Степень поражения плода (как и при других ВУИ) зависит от сроков заражения беременной, но при этом клинически, они будут сходны с внутриутробной инфекцией плода другой этиологии (токсоплазменной, цитомегаловирусной, герпетический и др.).

Таким образом, понятна ведущая роль лабораторной диагностики при расшифровке краснушной инфекции, особенно у беременных женщин и новорожденных, подвергшихся угрозе заражения внутриутробно.

До 90-х годов основным методом лабораторной диагностики краснухи в нашей стране была реакция торможения гемагглютинации (РТГА), с помощью которой исследовали парные сыворотки пациентов и по сероконверсии – 4-х кратному и более приросту антител - ставился лабораторный диагноз. Существенным недостатком метода следует признать невозможность раздельного определения *IgG* и *IgM* антител, что затрудняет дифференциальную диагностику острой краснухи и нарастания *IgG* антител в случае контакта проиммунизированного (уже перенесшего заболевание или ранее вакцинированного) пациента с инфекцией, т.е. «бустер-эффект», когда сформированные клетки иммунологической памяти начинают бурную выработку антител в ответ на контакт с уже знакомым возбудителем. Вторая проблема, возникавшая при применении метода РТГА для диагностики краснухи, заключалась в невозможности получить лабораторный ответ в течение одного дня, поскольку необходимость исследования второй пары сывороток удлиняла срок выдачи ответа до недели или даже двух недель.

С широким внедрением в практику иммуноферментных методов

анализа, дающих возможность раздельного определения *IgM* и *IgG* антител, стала возможной более достоверная и экстренная лабораторная диагностика краснухи по одной пробе крови, что особенно важно при обследовании беременных женщин, новорожденных детей с клиническими проявлениями ВУИ и т.п.

Причем выявление специфических *anti-Rubella IgM* проводится качественным методом, поскольку вне зависимости от уровня обнаружение их свидетельствует об острой краснушной инфекции; *anti-Rubella IgG* – количественным методом с определением уровня антител в международных единицах в диапазоне от 0 до 300 МЕ/мл, что крайне важно в связи с различным их уровнем на разных этапах болезни. Выявление *IgG* антител может указывать: 1) на текущую инфекцию; 2) наличие протективного иммунитета в результате перенесенного в прошлом заболевания (анамнестические антитела) или 3) на прошедшую успешно вакцинацию.

Классический серологический профиль краснушной инфекции может быть представлен следующим образом: в типичных случаях в разгар заболевания в сыворотке крови пациента присутствуют оба типа антител – *IgG* и *IgM*. Причем *IgM* антитела появляются в первые дни болезни, опережая образование *IgG* антител. Минимальный их уровень может быть определен через несколько дней после появления сыпи (но не ранее 5-7 дня), максимального уровня *IgM* антитела достигают на 3-4 неделе заболевания, затем происходит его снижение и достаточно быстрое исчезновением антител из крови. Уровень *IgG* антител достигает максимума к 6-8 неделям заболевания, затем постепенно снижается (в течение недель-месяцев), но антитела остаются в крови пожизненно и защищают от повторной инфекции.

При встрече иммунной женщины с больным краснухой (с клинически выраженной или стертой инфекцией) возможно повторное заражение (реинфицирование), которое всегда заканчивается благополучно вследствие купирования вируса во входных воротах инфекции (носоглотка и др.). Полагают, что у иммунных беременных женщин возможно купирование вируса на уровне плаценты. Иммунологически реинфицирование протекает по типу «бустер-эффекта» или сероконверсии – значительного роста уровня *IgG* антител при полном отсутствии *IgM* антител. Причем

эти *IgG* антитела будут значительно отличаться высокой степенью авидности от малоавидных *IgG* антител, формирующихся в начале заболевания в период острой краснушной инфекции.

Постановка лабораторного диагноза краснухи у инфекционных больных на фоне типичной клинической картины (лихорадка, сыпь,

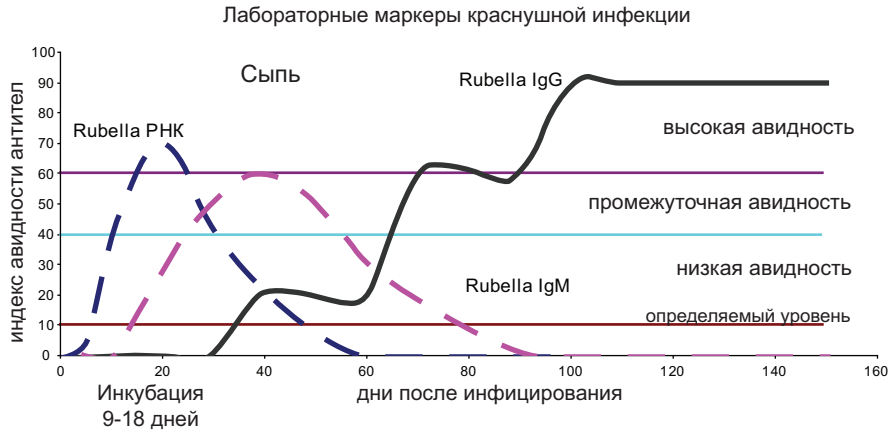


График 1

лимфаденит) не представляет труда: выявление *IgM* антител на фоне высокого уровня *IgG* антител характерно для острой краснушной инфекции как клинически выраженной, так и протекающей стерто, бессимптомно.

Таким образом, *алгоритм обследования инфекционного больного* достаточно прост и заключается в однократном обследовании на *anti-Rubella IgM и IgG* антитела пробы крови пациента, взятой не ранее 5-7 дня с момента появления сыпи.

Чрезвычайно ответственным и трудным аспектом диагностики краснухи является лабораторная постановка диагноза у *беременных женщин*. Показанием для лабораторного обследования беременной является:

- пренатальный скрининг здоровой беременных женщин на ВУИ, в том числе на краснуху;
- пренатальный скрининг здоровой беременной женщины при

контакте ее с больным краснухой или с недиагносцированным заболеванием, сопровождающимся сыпью.

Пренатальный скрининг здоровых беременных женщин на краснуху с целью определения их серологического статуса и группы риска проводят путем тестирования крови на *anti-Rubella IgG.*

При обнаружении в крови беременной специфических *IgG* антител, свидетельствующих о перенесенной в прошлом краснухе, можно говорить о защищенности пациентки и ее плода от краснушной инфекции. При этом, следует помнить, что краснуха может протекать бессимптомно (от 30 до 90 % случаев) и заканчиваться выработкой протективных (защитных) антител. С этим связаны достаточно частые факты отрицания пациентками краснухи в анамнезе при достоверном обнаружении *IgG* антител в крови. При этом, конечно же, важен уровень обнаруженных антител.

По данным литературы, минимальный защитный уровень *IgG* антител при краснушной инфекции составляет 15 МЕ/мл.

Схематически интерпретацию получаемых результатов можно представить следующим образом:

- при низких уровнях *IgG* (от 15 до 100 МЕ/мл) считают женщину защищенной от краснушной инфекции;
- при высоких уровнях *IgG* (более 100 МЕ/мл) проводят дополнительное исследование крови на IgM антитела;
- при отсутствии *IgG* антител относят пациентку к группе риска.

В случае обнаружения высокого содержания *anti-Rubella IgG* (более 100 МЕ/мл) проводят тест на их авидность.

Определение ИА *anti-Rubella IgG* антител дает ответ на вопрос о давности протекания инфекции: в случае получения результата с высокими значениями авидности антител, можно утверждать, что краснушная инфекция протекала давно, разрешилась образованием защитных антител и, соответственно, полным отсутствием вируса в организме пациента. В случае выявления низкоавидных антител или антител с промежуточными значениями ИА, следует подозревать недавно перенесенную инфекцию, поскольку смена низкоавидных *anti-Rubella IgG* антител антителами с высоким ИА происходит на 25-30 день инфекции, в это время вирус краснухи еще может содержаться в организме пациента (вирус при краснушной инфекции циркулирует в организме до 30 дней с момента заражения).

Алгоритм тестирования сывороток крови здоровых беременных женщин на краснуху.

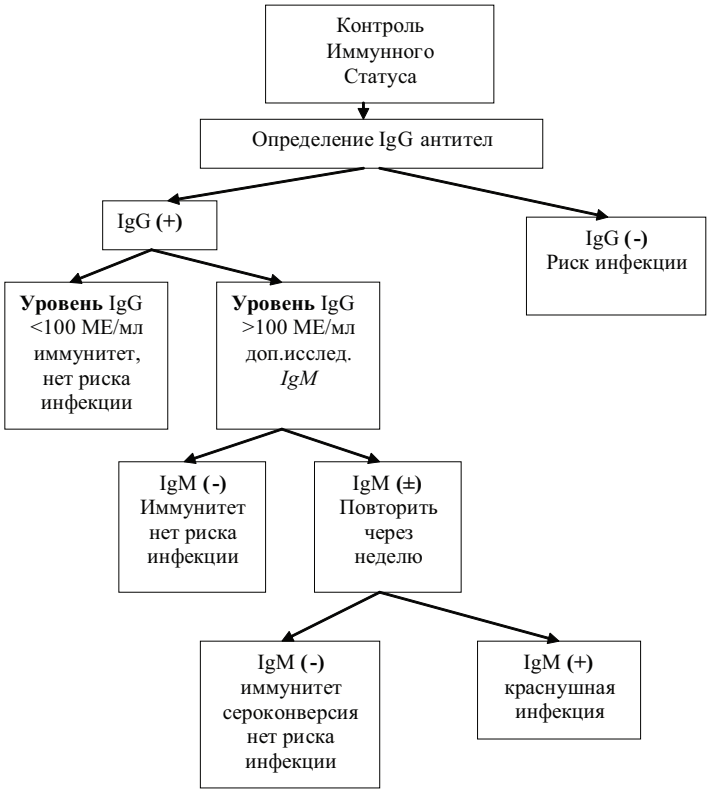


Схема 1

Алгоритм тестирования беременной женщины при контакте ее с больным краснухой (с сыпью) аналогичен пренатальному скринингу и начинается с тестирования крови на *IgG* антитела.

Основным правилом, которое должны знать и которому должны следовать участковые врачи и врачи-гинекологи: лабораторное обследование беременной женщины в таких случаях следует начинать как можно раньше. Взятие крови должно проводится в первый день контакта или в первый день обращения к врачу, чтобы на момент контакта установить иммунный статус женщины в отношении краснухи.

Алгоритм тестирования сывороток крови беременных при контакте с краснухой

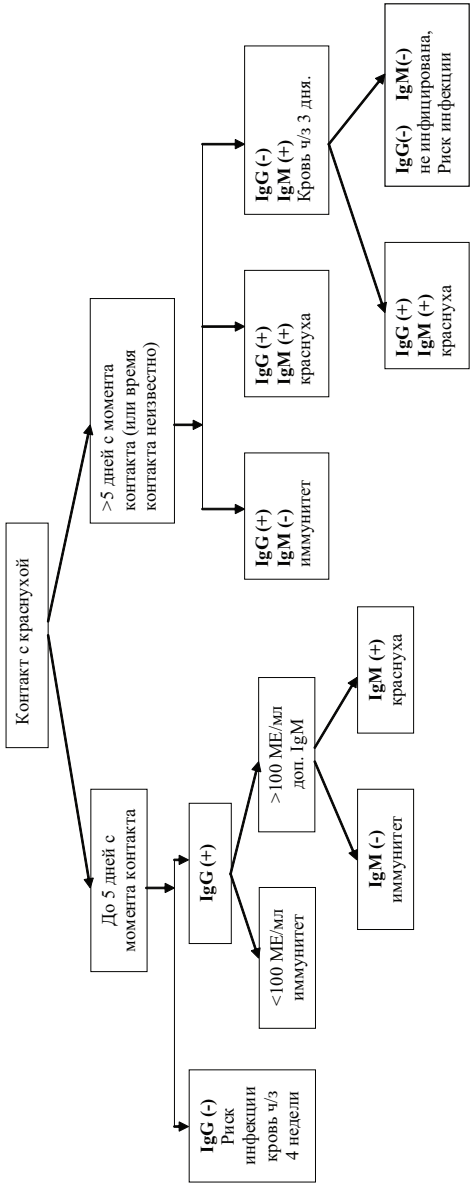


Схема 2

При обнаружении в крови беременной в первые дни контакта специфических *IgG* антител, свидетельствующих о перенесенной в прошлом краснухе, можно говорить о защищенности пациентки и ее плода от краснушной инфекции. При правильных сроках взятия крови, как правило, получаются адекватные результаты – низкий или средний (до 100 МЕ/мл) уровень антител.

При обнаружении высоких уровней *IgG* антител (100 и более МЕ/мл) целесообразно поставить тест на авидность и/или дополнительно исследовать кровь на наличие *IgM* антител. Однако следует помнить, что высокие уровни краснушных *IgG* антител могут быть у иммунных беременных женщин при повторной встрече с инфекцией за счет «бустер-эффекта», при котором показатели *IgG* антител могут достигать высоких уровней (до 300МЕ/мл). Поэтому в таких случаях показано, прежде всего, определение авидности *IgG* антител (высокая авидность антител свидетельствует в пользу завершившейся сероконверсии анамнестических антител).

При отсутствии в крови *IgG* антител беременную относят к группе риска и обследуют повторно в конце инкубационного периода, максимальная продолжительность которого составляет 21 день.

Следует особо остановиться на тестировании *IgM* антител в сыворотках крови беременных женщин, поскольку у них довольно высока частота неспецифических (ложноположительных) реакций из-за присутствия в крови различных гетерофильных антител, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), ревматоидного фактора (RF), различных других полипротеинов, формирующихся в результате развития плода, а также специфических краснушных *IgG* антител.

Чем более чувствительный метод и/или тест-система, тем больше вероятность получения неспецифических результатов при тестировании *IgM* антител (хемилюминесцентный метод, например, обладает большей чувствительностью по сравнению с ИФА). Поэтому достаточно часто реактивные на *IgM* результаты приходится подтверждать. Это относится, прежде всего, к слабоположительным результатам. Даже при использовании высококачественной продукции фирмы *«Roche»*, которую отличает высокая чувстви-

тельность и специфичность, при тестировании сывороток беременных слабопозитивные результаты краснушных *IgM* антител (от 105% до 200% от уровня cut off), как правило, не подтверждались.

Получение ложноположительных как и ложноотрицательных результатов при диагностике *anti-Rubella IgM* антител связано с целым рядом проблем:

- во-первых, *IgM* антитела обладают значительно меньшей авидностью, по сравнению с *IgG* антителами;
- во-вторых, более аффинные *IgG* антитела конкурируют за сайты связывания сорбированных на поверхности лунок полистирольных планшетов молекул антигена с менее аффинными (т.е. слабее связывающимися) *IgM* антителами, что при высокой концентрации *IgG* антител приводит к ложноотрицательным результатам;
- гетерофильные антитела, неспецифические олигопептиды, *IgE* антитела (при аллергических состояниях) также могут конкурировать за сайты связывания с *IgM* антителами.

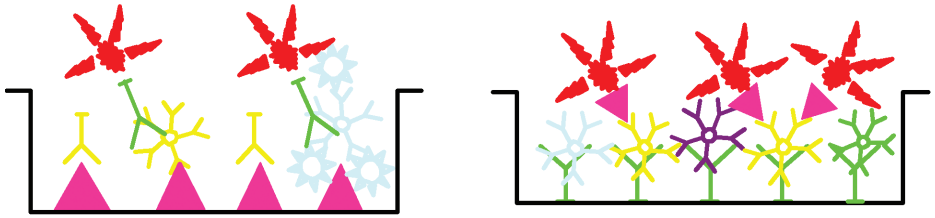
Существует несколько подходов к решению этой задачи. Один из них предложен, например, фирмой *«Labsystems»*, рекомендующей при исследовании сывороток на присутствие *IgM* антител к любому возбудителю использовать специальные реагенты: *«IgM confirmatory»* или *«IgG bloking reagent»*, представляющие собой растворы, способные снимать эффект интерферирующего действия различных протеинов путем удаления их из сыворотки беременных. Применение подобных растворов значительно повышает чувствительность и специфичность проводимых исследований, но сопровождается появлением в протоколе опыта дополнительной стадии пробоподготовки, поскольку эти реагенты используют для предобработки сывороток перед постановкой ИФА.

Следующее техническое решение, реализованное, в частности, при создании хемилюминесцентных наборов, заключается в том, что предобработка сывороток с целью снятия неспецифических результатов при исследовании *IgM* антител, включена в тест и начинается на первом этапе постановки реакции путем разведения сыворотки буфером на протеиновой основе, содержащим антитела для

удаления *IgG* антител и ревматоидного фактора.

Однако наиболее специфичные и чувствительные результаты могут быть получены при использовании тест-систем с технологией предварительного захвата *IgM* антител (также известной как μ-захват или *IgM*-capture), включенной в рекомендацию по лабораторной диагностике TORCH-инфекций Американского Центра по контролю за заболеваемостью (CDC). Этот подход к конструированию тест-систем широко применяется во всем мире и является, на данный момент, наиболее передовым.

Тест-системы для определения *IgM* антител ООО *«Компания Алкор Био»* основанные на этой технологии, сконструированы на основе метода предварительного захвата *IgM* антител и успешно выпускаются на протяжении последних лет. Схематически метод изображен на *рис.2*



А) *Б)*

Рис.2 Схематическое изображение определения IgM антител методом ИФА в классическом (А) варианте и методом IgM-захвата (Б).

Принцип метода заключается в сорбировании на дне лунки планшета не антигена, к которому исследуются антитела (и который будет прежде всего связываться с *IgG* антителами, не оставляя сайтов связывания для *IgM*), а антител против μ-цепей иммуноглобулинов человека, которые улавливают все *IgM* антитела, содержащиеся в образце. После промывки удаляется весь несвязавшийся материал, в том числе *IgG* антитела, гетерофильные антитела, ревматоидный фактор и т.п., являющиеся основными причинами ложноположительных и ложноотрицательных результатов исследования. После чего очищенная таким образом фракция *IgM* антител исследуется на наличие специфических антител против

определяемого антигена. Во время последующих инкубаций происходит взаимодействие связанных с подложкой антител с рекомбинантным или синтетическим антигеном, конъюгированным с пероксидазой хрена либо стрептавидин-биотиновым комплексом, после чего добавляется хромоген и происходит развитие окраски, выявляемой при спектрофотометрировании.

И тем не менее, несмотря на все описанные предосторожности, при получении повторных слабоположительных или сомнительных результатов при тестировании *IgM* антител приходится запрашивать вторую сыворотку беременной женщины и по динамике показателей *IgM, IgG* (рост уровня антител или отсутствие роста) давать окончательный результат.

Дополнительные возможности дает постановка теста на авидность *anti-Rubella IgG*. *IgM*-антитела характеризуются невысокой авидностью, которая практически не меняется в ходе инфекции, в отличие от *IgG* антител, авидность которых и аффинитет резко возрастают по ходу инфекции. Поэтому введение теста на авидность *IgG* антител представляется нам очень важной дополнительной характеристикой, позволяющей дифференцировать *IgG* антитела острой инфекции с низким показателем ИА от высоко авидных антител стадии реконвалесценции или анамнестических антител. Понятно, что при сомнительных результатах *IgM* антител и высокой авидности *IgG* антител следует думать об артефакте исследований на IgM антитела. Можно рекомендовать в таких случаях использование иммунного блота, специфичность которого для определения антител к краснухе следует считать *«золотым стандартом»*. В то же время при низкой авидности *IgG* антител и сомнительных результатах *IgM* антител следует думать о текущей инфекции.

Несомненным подспорьем в постановке лабораторного диагноза краснухи у беременных женщин и новорожденных детей является использование метода ПЦР для обнаружения в крови РНК вируса краснухи. Хотя этот метод имеет и свои ограничения, в силу специфики данного инфекционного процесса: вирус краснухи имеет весьма низкую репликативную активность и его

концентрация в крови больного крайне низкая, по сравнению с другими инфекциями TORCH-комплекса, что значительно влияет на способность метода ПЦР выявлять РНК вируса краснухи.

Поэтому для повышения чувствительности метода ПЦР при постановке реакции обратной транскрипции следует применять специальный затравочный праймер, в отличие от большинства инфекций, где для стадии обратной транскрипции используются рандомизированные праймеры. Однако, даже, несмотря на подобные технологические ухищрения, выявляемость РНК вируса краснухи, особенно на поздних стадиях заболевания, остается низкой.

Результаты проведенных нами исследований в Санкт-Петербурге показали, что около 80% женщин имеют *anti-Rubella IgG* антитела, следовательно, прослойка неиммунных женщин детородного возраста составляет в нашем городе около 20%. Они представляют группу риска по краснухе.

Среди беременных женщин, обратившихся по клиническим показаниям (контакт по краснухе, контакт с пациентом с сыпью и другие заболевания, подозрительные на краснуху), *IgM* антитела к вирусу краснухи обнаружены в 2,7%. Среди здоровых беременных женщин специфические *IgM* антитела не были обнаружены ни разу.

У новорожденных детей с клиническим диагнозом ВУИ *IgM*-антитела к вирусу краснухи обнаруживались в единичных случаях.

Таким образом, серологические исследования по раздельному определению *IgG* и *IgM* антител крайне важны для диагностики краснухи и профилактики внутриутробного заражения плода и, на наш взгляд, должны быть включены в систему пренатального скрининга, включая углубленный вариант определения *IgG* антител с определением индекса авидности. Применение расширенного алгоритма обследования на наличие антител к краснухе с использованием определения ИА позволит значительно повысить достоверность лабораторной диагностики, особенно при обследовании беременных.

Для ИФА-диагностики краснушной инфекции рекомендуем использовать следующие тест-системы:

№ по кат	Название	Формат	Срок годности, мес.	Дополнительная информация
200-04	«Краснуха IgG» *	12x8	12	Тест-система для выявления и/или количественного определения антител класса IgG к вирусу краснухи в сыворотке и плазме крови
200-05	«Краснуха IgM» *	12x8	10	Тест-система для выявления и определения антител класса IgM к вирусу краснухи в сыворотке и плазме крови, «μ-capture» вариант ИФА
200-06	«Краснуха IgG-авидность» *	12x8	12	Тест-система для опредения авидности антител класса IgG к вирусу краснухи в сыворотке и плазме крови

Таблица 1

* Тест-система адаптирована для работы с планшетным автоматическим ИФА-анализатором «Alisei»

Токсоплазмоз

Актуальность лабораторной диагностики токсоплазмоза обусловлена практически повсеместным распространением возбудителя в природе, возможностью длительной персистенции токсоплазм в органах и тканях инфицированных и, наконец, ролью инфекции в перинатальной патологии. В разных странах частота обнаружения *IgG* антител к токсоплазме, свидетельствующая о состоявшемся инфицировании, колеблется от 1% (в странах с холодным и сухим климатом) до 90% в странах Центральной Америки (теплый, влажный климат, обилие мелких кошачьих). В США средняя встречаемость *IgG* антител к токсоплазме составляет 22-25%, при этом у женщин детородного возраста – 15%. В Западной Европе 25-30%, но во Франции – до 70%, что связано с особенностями национальной кухни. На территории России инфицированность токсоплазмой колеблется от 14% (Омская обл.) до 25% в Москве и даже до 40% в Санкт-Петербурге (собств. данные).

Выделяются две характерные особенности токсоплазмоза: 1) латентные формы токсоплазменной инфекции преобладают над клинически выраженными; 2) заболевание развивается при массивном заражении или при низком уровне иммунологической защиты организма, что свидетельствует о невысокой контагиозности инфекции.

Возбудитель – *Toxoplasma gondii*, облигатный внутриклеточный паразит, относится к типу *Protozoa*, классу *Sporozoa* и имеет сложный цикл развития.

Окончательным хозяином токсоплазмы является домашняя кошка и другие представители семейства кошачьих (сем. *Felidae*). При заражении кошки алиментарным путем паразиты проникают в эпителиальные клетки кишечника, где проходят полный цикл развития (бесполый и половой), завершающийся образованием ооцист. После чего кошка приобретает иммунитет к заболеванию. Чаще всего болеют токсоплазмозом котята первого года жизни.

Ооцисты с фекалиями кошки попадают во внешнюю среду, к которой высоко устойчивы и в которой длительно могут сохранять свою инфекционность. По данным США, до 30% кошек инфицированы токсоплазмами, но только 1% выделяют ооцисты, которые способны заражать человека.

Промежуточными хозяевами являются многие виды теплокровных животных, млекопитающие, птицы. Человек – неспецифический, тупиковый хозяин токсоплазмы. В организме промежуточного хозяина токсоплазмы размножаются только бесполым путем и проходят две стадии развития.

На первой стадии развития токсоплазмы существуют в виде эндозоитов. Эндозоит – бурно размножающаяся внутриклеточная форма, вызываю-щая разрушение и воспалительную реакцию в виде гисти-оцитарно-макрофагальных гранулем. Наличие эндозоитов характерно для острой стадии токсоплазмоза. В дальнейшем на фоне развития иммунитета большинство эндозоитов

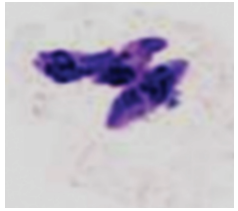


Рис. 3 Эндозоит

погибает, а сохранившиеся в отдельных органах превращаются в цисты.

Вторая стадия развития токсоплазм в организме промежуточного (травоядные животные, грызуны) или тупикового (человек) хозяина начинается с формирования цисты. Цисты имеют шарообразную форму, окружены плотной оболочкой и приспособлены к длительному существованию в организме хозяина. Воспалительная реакция вокруг цист отсутствует. Они могут локализоваться в головном мозге, сетчатке глаза, в мышечных органах. Их наличие характерно для хронической стадии токсоплазмоза.

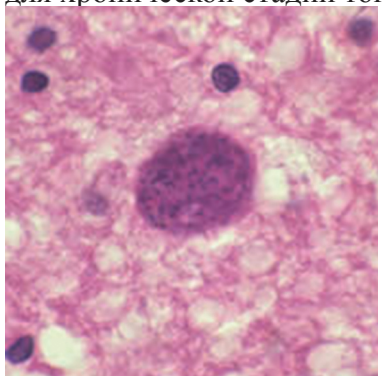


Рис.4 Циста в головном мозгу. Окрашивание гематоксилин-эозином (x100).

Находящиеся внутри цисты паразиты (цистозоиты) медленно размножаются, вызывая рост цисты. Разрыв, разрушение цист приводит к рецидиву органных поражений. Сельскохозяйственные животные, в мясе которых могут содержаться цисты токсоплазм, играют важную эпидемиологическую роль в заражении людей. Крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, кролики инфицированы токсоплазмами в 5-15% случаев. Основной путь заражения человека - пероральный. Он осуществляется в основном цистами или ооцистами. Заражение цистами может произойти при употреблении недостаточно термически обработанного мяса или сырого фарша, а заражение ооцистами – через грязные руки при контакте с кошками, внешней средой, при употреблении немытых или плохо мытых овощей, ягод, загрязненных почвой. Возможен и конгенитальный путь заражения плода от матери через плаценту – внутриутробное инфицирование. Источником инфекции для плода в данном случае является мать. Доказано заражение плода только от женщин со свежей (первичной инфекцией), приобретенной во время данной беременности, когда имеется паразитемия и возбудитель с кровью может попасть в плаценту. В ней формируется первичный очаг инфекции,

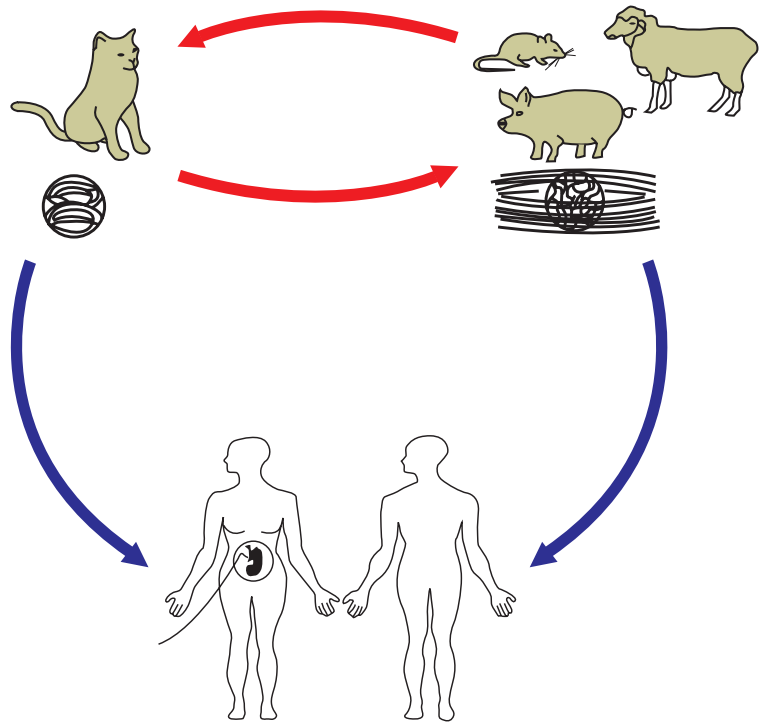


Рис.5 Пути инфицирования токсоплазмозом

из которого токсоплазмы гематогенным путем попадают к плоду. Причем такой путь заражения реализуется только однократно, т.е. доказанная развившаяся токсоплазменная внутриутробная инфекция во время предыдущей беременности исключает опасность заражения токсоплазмой во время последующих беременностей.

У женщин, заразившихся токсоплазмозом до беременности (старая латентная или хроническая инфекция), передача возбудителя плоду не доказана. Считают, что развившийся иммунитет матери, выражающийся наличием *IgG*- антител, защищает плод от заражения.

Установлено также, что не все женщины, заразившиеся во время беременности, передают инфекцию плоду. Это происходит примерно у половины из них, у остальных успевает развиться иммунитет, защищающий плод.

Основным методом диагностики токсоплазмоза является об-

наружение антител к поверхностным антигенам T. gondii. Определение ДНК токсоплазмы является только вспомогательным методом и используется преимущественно для диагностики токсоплазмоза у ВИЧ инфицированных пациентов. В референтных или научно-исследовательских лабораториях могут применяться дополнительные методы диагностики: культивирование *T. gondii* в лабораторных животных или в чувствительных культурах клеток либо микроскопическое определение токсоплазм в биоптатах, пунктатах или секционном материале.

Развитие серологической диагностики токсоплазмоза прошло ряд этапов, связанных с появлением новых технологий определения антител к токсоплазме в сыворотке крови. Первым методом специфического определения антитоксоплазменных антител стала реакция Сэбина-Фельдмана, основанная на отсутствии окрашивания живых токсоплазм метиленовым синим в присутствии антитоксоплазменных антител. Принцип метода заключается в прикреплении специфических антител к поверхностным антигенам клетки T. *gondii*, после чего сформированный комплекс антиген-антитело обрабатывается комплементом, в результате чего клетки, к которым прикрепились антитела, перфорируются, их содержимое вытекает. Такая клетка не окрашивается метиленовым синим.

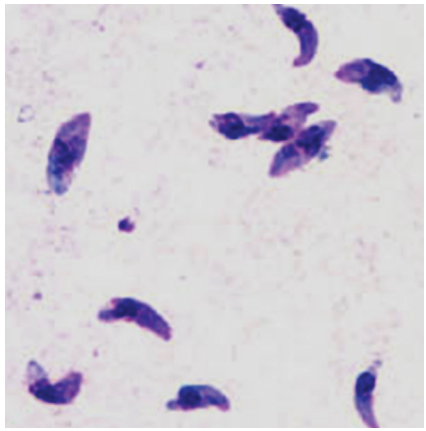


Рис.6 Отрицательная реакция Сэбина-Фельдмана (окрашенные метиленовым синим клетки T.gondii)

Метод до сих пор является «золотым» стандартом диагностики токсоплазмоза. Реакция Сэбина-Фельдмана дает положительный результат уже на 5-7 день после инфицирования. При анализе первичноположительной сыворотки в разведениях можно получить полуколичественную характеристику исследуемого материала в титрах. Существенным недостатком метода является необходимость культивирования токсоплазм, сложность и трудоемкость реакции, что делает ее трудно применимой для массового скрининга. Поскольку учет реакции проводится с помощью микроскопа, т.е. глазомерно, то в оценку результатов вносится элемент субъективности. Кроме того, в реакцию с поверхностными антигенами вступают как *IgM*, так и *IgG* антитела, следовательно, с помощью реакции Сэбина-Фельдмана нельзя раздельно определить антитела по классам.

Значительно проще технологически определение антител к токсоплазме методом непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ). Метод также определяет суммарные антитела к *T. gondii* и дает положительные результаты уже с 5-7 дня после инфицирования. Использование РНИФ не предъявляет настолько высокие требования к оснащению лаборатории и квалификации персонала, как применение реакции Сэбина-Фельдмана и является более производительным. К недостаткам метода следует отнести невозможность количественного определения антител, субъективность оценки результата, свойственная всем микроскопическим методам. Метод не подходит для скрининга больших групп населения и не дает возможность проводить дифференциальную лабораторную диагностику различных стадий инфекции.

Принципы лабораторной диагностики токсоплазмоза у беременных и новорожденных во многом сходны с диагностикой краснухи, хотя, как уже говорилось, при токсоплазмозе латентные формы преобладают над клинически выраженными, а длительная персистенция возбудителя в организме в различных органах и тканях формирует хроническое заболевание.

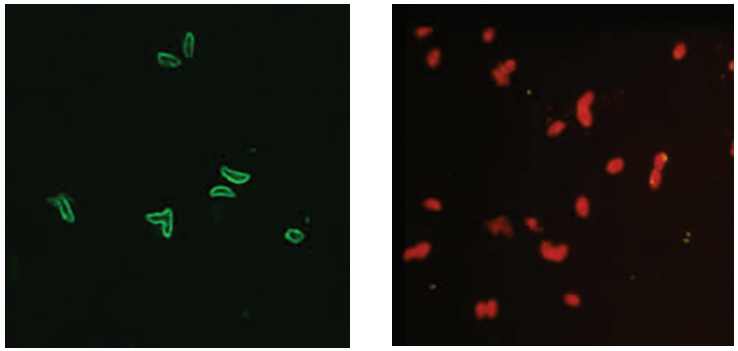


Рис.7 Определение антител к T. gondii в сыворотке крови методом РНИФ (слева положительная реакция, справа – отрицательная).

Современный алгоритм ИФА-диагностики токсоплазмоза для всех контингентов, за исключением новорожденных, по рекомендации Американского центра по контролю над заболеваниями (CDC) можно представить следующим образом:

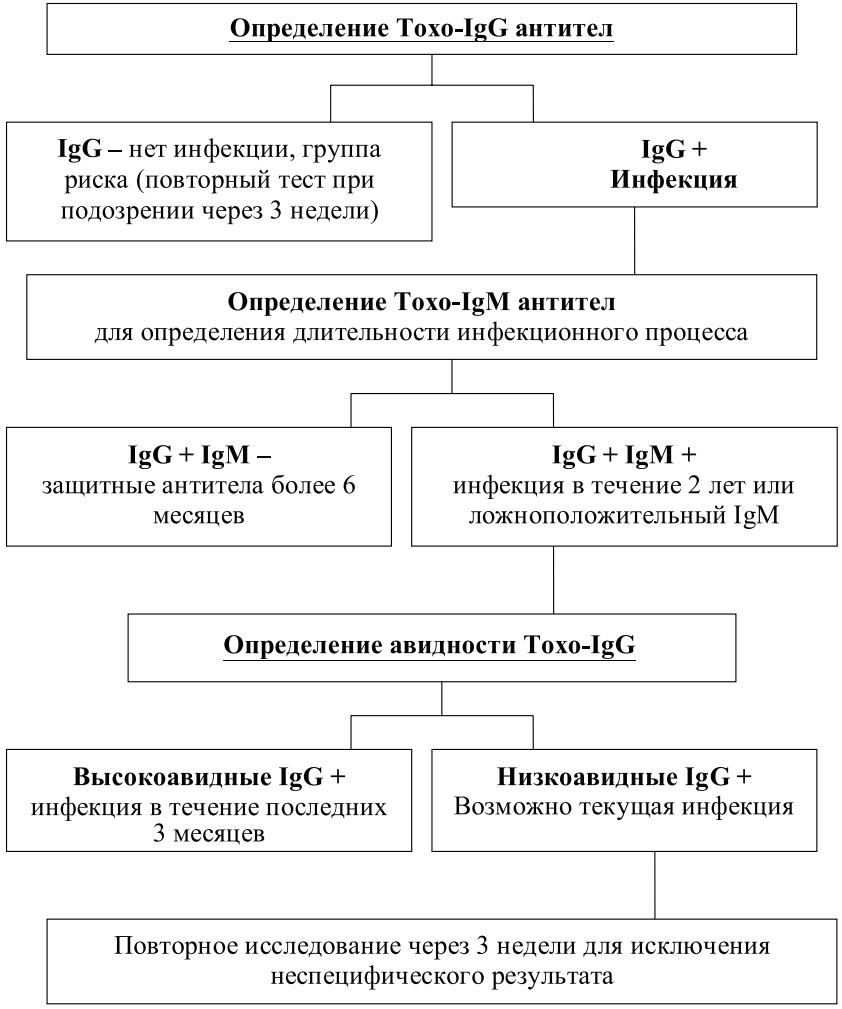


Схема 3

Таким образом, определение авидности *IgG* антител к токсоплазме включено в этот диагностический алгоритм для дифференциальной диагностики первичной и завершающейся инфекции. Дополнительным преимуществом этого алгоритма следует считать методическую простоту, поскольку для лабораторной диагностики здесь применяется только метод ИФА и не требуется использовать иные методы лабораторной диагностики.

В случае невозможности определить ИА *Toxo IgG* антител можно предложить упрощенный диагностический алгоритм

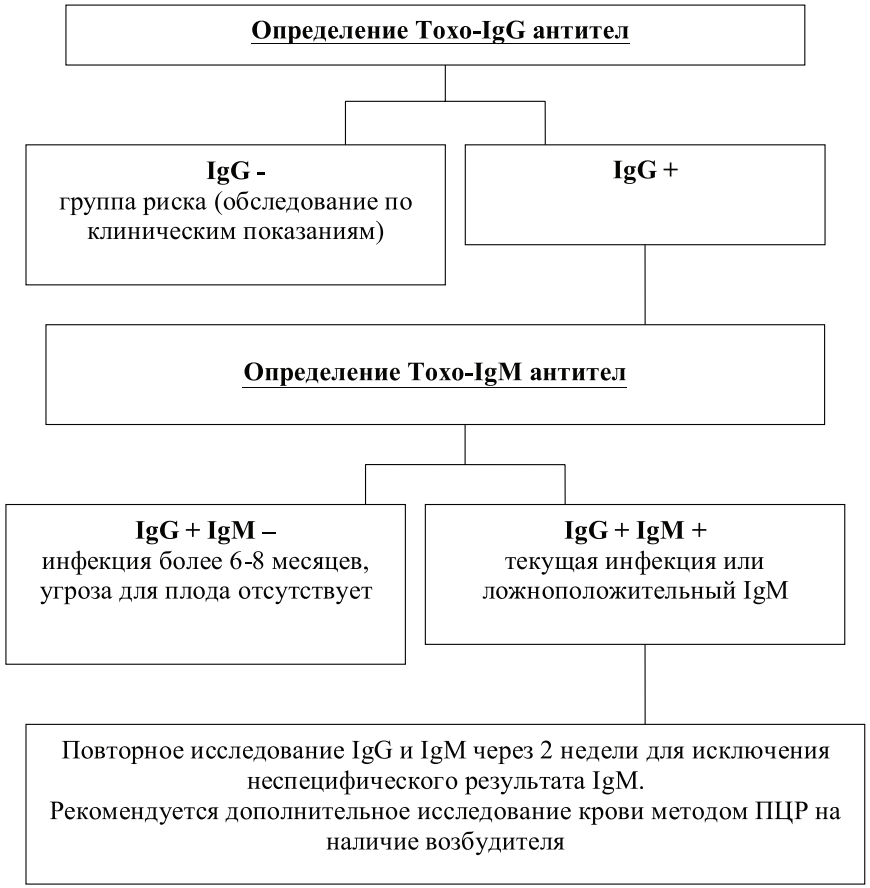


Схема 4

Пренатальный скрининг здоровых беременных женщин на токсоплазмоз проводят по тестированию *anti-Toxo IgG* антител.

При отсутствии в крови специфических *IgG* антител относят женщину к группе риска и обследуют повторно по клиническим показаниям (лихорадка, боли в мышцах, полилимфаденит, сыпь, заболевании глаз по типу хориоретинита, гранулематозного увеита и др.).

При обнаружении *IgG* антител (вне зависимости от их уровня) мы рекомендуем определять наличие *IgM* антител. Поскольку вероятность обнаружения острого токсоплазмоза в популяции невысока, каждый случай инфицирования нуждается в тщательном обследовании, тем более, что паразитологическая диагностика в настоящее время не проводится.

При наличии отягощенного акушерского анамнеза, в случае невозможности исследования сыворотки на ИА к *Toxo IgG* антителам, рекомендуется применять иной диагностический алгоритм:

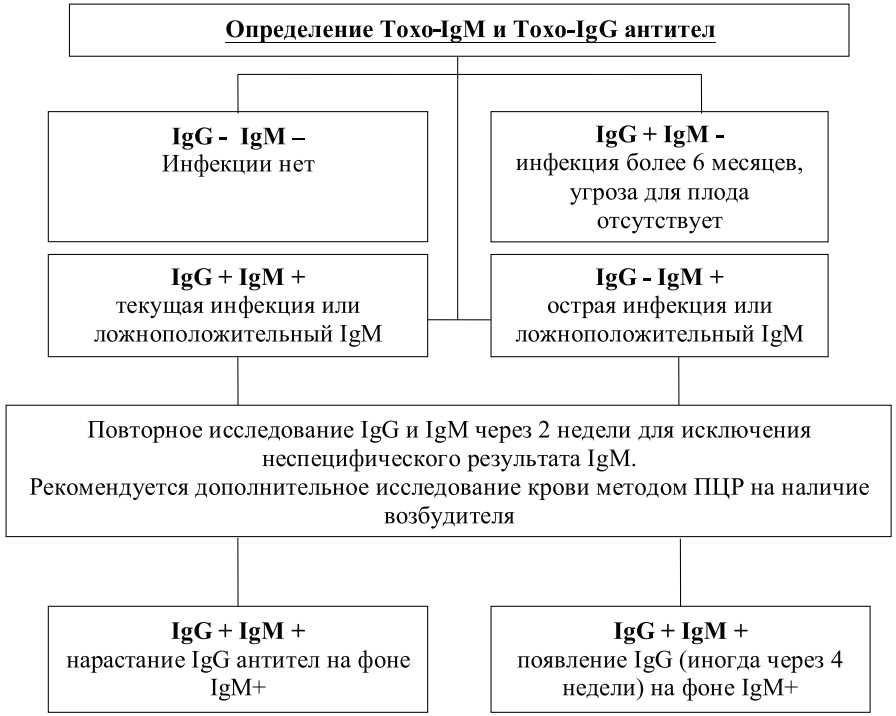


Схема 5

Поскольку в случае ОАА уже имеются клинические показания, то исследование клинического материала следует начинать сразу с одновременного определения как *Toxo IgG*, так и *Toxo IgM* антител.

Все алгоритмы, в которых не используется определение ИА, включают в себя исследование методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) – методом прямого обнаружения нуклеиновой кислоты (ДНК) токсоплазмы в крови, который широко используется в сложных случаях. Однако более метод ПЦР при диагностике токсоплазменной инфекции востребован в случае исследования клинического материала от иммунодефицитных пациентов. Сюда относятся не только пациенты с генетическими дефектами образования антител, но и все пациенты с вторичными иммунодефицитами, в т.ч. ВИЧ/СПИД больные, онкологические, онкогематологические, посттрансплантационные и иные группы пациентов, получающие иммуносупрессивную терапию. Такие пациенты характеризуются пониженной выработкой антител, и у них *Toxo IgG* антитела определяются в незначительных количествах, а в некоторых случаях не определяются вообще. *Toxo-IgM* антитела также не определяются в большинстве случаев. Единственным эффективным диагностическим инструментом остается прямое определение токсоплазмы методом ПЦР (выявление ДНК T. gondii в плазме, ликворе, спинномозговой жидкости, слюне и т.п.).

При определении инфицированности новорожденных следует учитывать, что материнские *Toxo IgG* антитела циркулируют в крови в течение всего первого года жизни ребенка, поэтому рекомендуется определение токсоплазмы методом ПЦР и выявление *Toxo IgM* антител. В ряде статей показано, что диагностически более эффективным является одновременное исследование сыворотки новорожденного на *Toxo IgM* и *Toxo IgA* антитела, которые начинают вырабатываться еще в период внутриутробного развития.

По данным серологических исследований, проведенных в СПб ГУЗ ГКДЦ(вирусологический) в 2000-2006 гг., 40,7% беременных женщин имели *anti-Toxo IgG*, являясь серопозитивными. Остальные пациентки представляли группу риска, нуждающуюся в наблюде-

нии и повторном обследовании на токсоплазмоз по клиническим показаниям. У 3,4% беременных определялись *anti-Toxo IgM* на фоне *anti-Toxo IgG*, что свидетельствовало о первичной токсоплазменной инфекции. С такой же частотой – 3,9% обнаруживались anti-*Toxo IgM* у инфекционных больных. Частота обнаружения *anti-Toxo IgM* у новорожденных была значительно ниже и составляла 0,3%.

Таким образом, современные алгоритмы лабораторной диагностики позволяют достоверно установить факт инфицированности пациента токсоплазмозом с применением наиболее эффективных, доступных и экономичных методов ИФА диагностики. Применение дополнительных возможностей ИФА (определение индекса авидности антител) позволяет диагностировать наиболее опасную для внутриутробного инфицирования первичную инфекцию.

Следует дополнительно подчеркнуть, исходя из вышеизложенного, что у женщин с отягощенным акушерским анамнезом, имевших в предыдущей беременности поражение плода в результате первичной токсоплазменной или краснушной инфекции, при последующей беременности ребенок рождается здоровым.

Для ИФА-диагностики токсоплазменной инфекции рекомендуем использовать следующие тест-системы:

№ по кат	Название	Формат	Срок годности, мес.	Дополнительная информация
200-01	«Токсоплазма IgG»*	12x8	12	Тест-система для выявления и/или количественного определения антител класса IgG к Toxoplasma gondii в сыворотке и плазме крови
200-02	«Токсоплазма IgM»*	12x8	12	Тест-система для выявления и определения антител класса IgM к Toxoplasma gondii в сыворотке и плазме крови, «μ-capture» вариант ИФА
200-03	«Токсоплазма IgG-авидность» *	12x8	12	Тест-система для опредения авидности антител класса IgG к Toxoplasma gondii в сыворотке и плазме крови

Таблица 2

* Тест-система адаптирована для работы с планшетным ИФА-анализатором «Alisei»

Цитомегаловирусная инфекция

Цитомегаловирус (ЦМВ), принадлежащий к семейству *Herpesviridae*, является одним из наиболее значимых возбудителей перинатальной патологии в 21 веке. По различным данным, активная форма цитомегаловирусной инфекции выявляется у женщин с ОАА в 35-60% случаев.

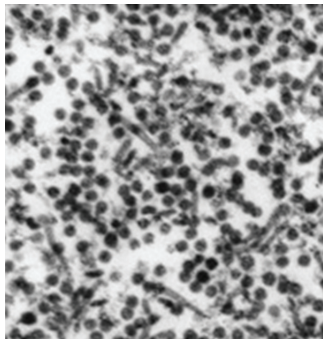


Рис.8 Цитомегаловирус.

Основными отличительными особенностями инфекций, обусловленных вирусами группы герпеса, является «нестерильный» характер иммунитета, длительная персистенция вирусов в организме, хронизация инфекционного процесса с периодами ремиссии и обострения, а также широкая циркуляция этих возбудителей среди населения.

Антитела к цитомегаловирусу обнаруживаются у 67-87% взрослого населения, при этом у женщин детородного возраста в 80-90%, т.е. абсолютное большинство населения инфицировано цитомегаловирусом. Следует подчеркнуть, что при «нестерильных» инфекциях, классическим примером которых является туберкулез, наличие специфических антител в крови пациента указывает на его инфицированность, а не защищенность от инфекции. А с другой стороны, факт инфицированности не свидетельствует о наличии активного процесса, поскольку для вирусов группы герпеса характерно существовании в виде латентной инфекции, при которой вирус не размножается, но персистирует в чувствительных клетках. Для ЦМВ таким «убежищем» являются эпителиальные клетки протоков и клетки паренхимы слюнных желез, клетки макрофагально-моноцитарной фракции периферической крови, клетки других органов и тканей.

При первичном инфицировании, инкубационный период составляет 4-5 недель (от 3 до 11), в стадии серологического окна происходит активная репликация вируса, единственный маркер инфицирования – ДНК ЦМВ, выявляемая в плазме крови методом ПЦР. По

мере развития инфекционного процесса происходит выработка IgM антител к ЦМВ, которые могут циркулировать весьма длительное время, иногда до 1 года после инфицирования. Через 1-2 недели после образования *IgM* антител начинается выработка *IgG* антител.

Первоначально вырабатываются *IgG* антитела низкой авидности, заменяемые постепенно высокоавидными антителами. При развитии иммунного ответа репликация вируса снижается до недектируемых величин, и инфекция переходит в латентную стадию. В таком виде инфекция существует годами, при этом в сыворотке крови пациента будут определяться только маркеры инфицированности – *IgG* антитела высокой авидности. ДНК ЦМВ не выявляется, так же как и *IgM* антитела.

Однако, при снижении уровня клеточного иммунного ответа, возможна реактивация инфекции и переход из латентной стадии в активную. При реактивации латентной инфекции возможно опять выявление *IgM* антител к ЦМВ, однако титр *IgG* может достоверно при этом и не возрастать. В пик реактивации в плазме крови выявляется ДНК ЦМВ методом ПЦР.

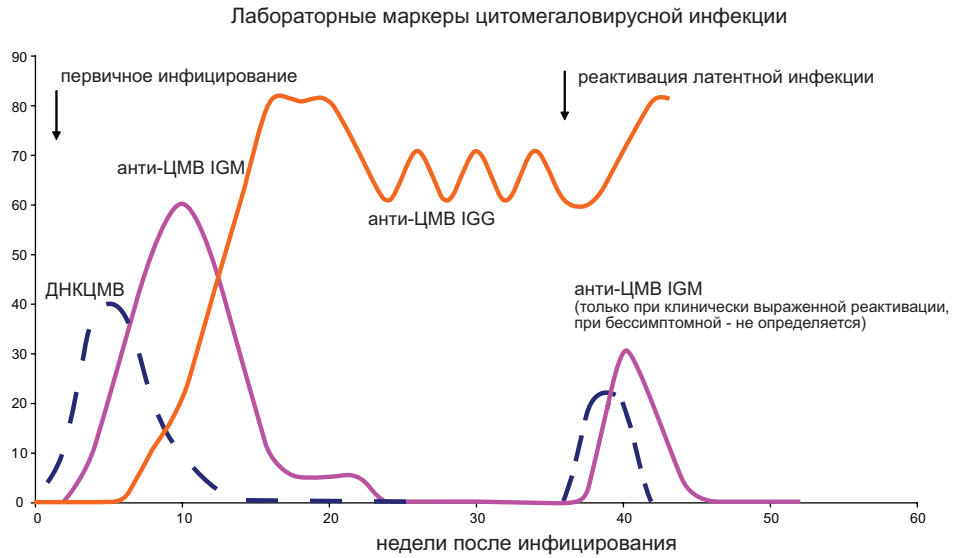


График 2

Источником инфекции служит человек с первичной инфекцией либо с реактивацией, в том числе и бессимптомной, латентной инфекции. Поскольку вирус обнаруживается практически во всех биологических жидкостях (слюне, моче, крови, спинномозговой жидкости, сперме, отделяемом влагалища, грудном молоке и т.п.), то и пути передачи инфекции могут быть различными: воздушно-капельный, гемоконтактный, в том числе и при парентеральном введении наркотиков, контактно-бытовой, при грудном вскармливании и т.д.

Для оценки роли ЦМВ в развитии внутриутробной инфекции следует помнить, что активная репликация вируса, при которой и происходит заражение ребенка от матери, возможна не только во время первичной инфекции, но также и при реактивации латентной инфекции. Процесс реактивации вирусной инфекции всегда сопровождается снижением противовирусной защиты.

Заражение ребенка от матери цитомегаловирусом возможно не только трансплацентарно во время первичной инфекции или при реактивации латентной инфекции, но и во время родов при прохождении ребенка через родовой канал. Наиболее тяжелые последствия для плода возникают при трансплацентарной передаче. Особенно на ранних сроках внутриутробного развития.

Опасность внутриутробного инфицирования при реактивации латентной инфекции и при первичной инфекции значительно различаются. Несмотря на то, что более 80-90% женщин детородного возраста инфицированы ЦМВ и риск реактивации инфекции составляет 10-30%, в то время, как только 10-20% беременных составляют группу риска, а вероятность развития первичной инфекции не более 5%, частота вертикальной передачи при реактивации латентной инфекции всего около 1%, в то время как при первичном инфицировании передача происходит в половине случаев. Т. е. риск значительно выше при первичном инфицировании. Кроме того, следует принять во внимание тот факт, что прогноз течения ЦМВ-инфекции у новорожденного при первичном инфицировании матери значительно хуже, чем при вертикальной передаче во время реактивации латен-

тной инфекции. В последнем случае инфекция протекает преимущественно бессимптомно (манифестное течение регистрируется только у 1% новорожденных) и в абсолютном большинстве случаев заканчивается выздоровлением. Вертикальная передача ЦМВ при первичном инфицировании протекает манифестно в 10-15 раз чаще и заканчивается выздоровлением только в 8-12% случаев.

Вертикальная передача ЦМВ при первичном инфицировании чаще сопровождается ранними клиническими проявлениями инфекции, наступающими в течение первого года жизни ребенка. К ним относятся гидроцефалия, асимметрия желудочков головного мозга, спинномозговая грыжа, кальциноз, хориоретинит, поражения зрительного нерва, глухота, ЦМВ-гепатит, интерстициальная пневмония, миокардит, панкреатит и иные тяжелые пороки развития, и комплексные поражения внутренних органов. Высока вероятность летального исхода.

При инфицировании плода во время реактивации латентной ЦМВ-инфекции, у детей чаще наблюдаются поздние проявления врожденной инфекции, наступающие в возрасте 2-5 лет и выражающиеся в нарушении зрения, слуха, задержке психического развития, двигательных реакций.

Таким образом, для прогноза риска инфицирования ЦМВ и для разграничения первичного инфицирования и реактивации латентной инфекции решающее значение приобретает постановка лабораторного диагноза.

Среди методов лабораторной диагностики, применяющихся в настоящее время, следует перечислить следующие: культуральные, микроскопические, серологические и молекулярно-биологические.

Культуральные методы диагностики, при высокой специфичности, обладают недостаточной чувствительность, весьма трудоемки, требуют специального лабораторного оборудования и высочайшей квалификации персонала. Вследствие этого, культуральные методы не подходят для скрининга и рутинной лабораторной диагностики, наиболее рациональное применение подобных лабораторных методов диагностики ЦМВ-инфекции – исследовательская диагностика, диагностика в специализированных референс-лабораториях.

Микроскопия, как в варианте обнаружения цитомегалитических клеток в неспецифически окрашенных гистологических препаратах (отпечатках, мазках, биоптатах), так и в варианте иммунофлуоресцентного (иммуногистохимического) окрашивания обладает целым рядом существенных недостатков. Несмотря на относительную простоту и дешевизну выполнения микроскопического исследования, микроскопические методы обладают весьма низкой чувствительностью, особенно при диагностике ЦМВ в стадии реактивации латентной инфекции, когда вирусемия невысока, в отличие от первичной инфекции, особенно на ранних стадиях ее развития.

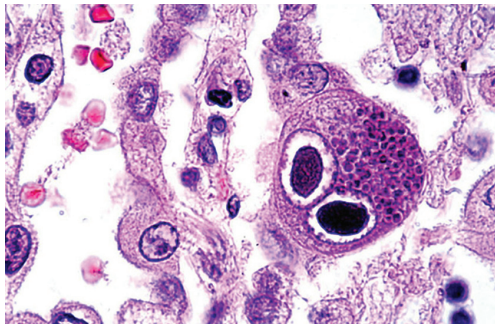


Рис.9 Инфицированная цитомегаловирусом «совиная клетка»

Серологические методы диагностики ЦМВ-инфекции основаны на определении специфических *IgM* и *IgG* антител к ЦМВ в варианте иммуноферментного анализа, причем если *IgM* антитела свидетельствуют либо о первичном инфицировании, либо о манифестной реактивации латентной инфекции, то *IgG* антитела присутствуют как у первично инфицированных на поздней стадии развития инфекции, так и у здоровых и у пациентов с реактивацией латентной инфекции. Поэтому качественного определения *IgG* антител к ЦМВ недостаточно для диагностики, особенно учитывая крайне высокую инфицированность населения.

При подозрении на вертикальную передачу ЦМВ, следует определять *IgM* антитела в пуповинной крови, получаемой после 16-17 недели беременности, поскольку материнские *IgM* антитела, в отличие от *IgG* антител, не проходят через плаценту. Начиная со II триместра беременности ребенок может сам вырабатывать противовирусные *IgM* антитела в случае внутриутробного инфицирования. Доказательством вертикальной передачи ЦМВ может также служить выявление *IgM* антител в крови ребенка в течение первых

трех недель жизни, поскольку более позднее выявление анти-ЦМВ *IgM* может свидетельствовать в пользу приобретенной инфекции, развившейся либо при родах, либо при передаче вируса через грудное молоко при вскармливании матерью с активно реплицирующейся формой ЦМВ-инфекции.

Для разграничения основных стадий развития ЦМВ-инфекции следует определять анти-ЦМВ *IgG* антитела в количественном варианте, либо определять индекс авидности антител. Поскольку поздняя стадия первичной инфекции характеризуется выработкой большого количества низкоавидных *IgG* антител, что отличает ее от реактивации латентной инфекции, когда определяются антитела высокой авидности.

Дополнительным методом серологической диагностики ЦМВ-инфекции является иммунный блот, позволяющий раздельно выявлять антитела к различным белкам вируса, что крайне важно при определении *IgG* антител к предранним белкам ЦМВ, образующимся при репликации вируса.

К несомненным достоинствам иммуноферментной диагностики следует отнести, в первую очередь, высокую чувствительность и специфичность, возможность проведения исследования большому числу пациентов, а также наличие дополнительных методов серологической диагностики, расширяющих диагностические возможности ИФА. Определение индекса авидности антител для дифференциальной диагностики поздней стадии первичной инфекции и реактивации латентной инфекции, использование иммунного блота для определения *IgG* антител к предранним белкам ЦМВ как маркеров репликации вируса. Все вышеперечисленное делает ИФА единственным скриннинговым методом диагностики ЦМВ-инфекции.

Молекулярно-биологические методы выявления ДНК ЦМВ используются широко для выявления факта инфицирования в период серологического окна, для диагностики инфекции в стадии реактивации, когда не происходит достоверного увеличения уровня *IgG* антител, а *IgM* антитела, не смотря на активное размножение вируса,

могут и не образовываться. ПЦР в количественном варианте эффективно используется для мониторинга эффективности противовирусной терапии, поскольку концентрация вирусных частиц изменяется гораздо быстрее, чем наступает выраженный эффект от применения лекарственных средств.

В случае диагностики ЦМВ-инфекции у иммунокомпромиссных пациентов ПЦР остается, в некоторых случаях, единственным эффективным диагностическим инструментом для установления диагноза. Например, пациенты с вторичными иммунодефицитами любого генеза характеризуются значительно сниженным антителообразованием, что делает неэффективной серологическую диагностику. Причем это могут быть как ВИЧ-инфицированные пациенты, так и трансплантационные или онкогематологические больные. Следует также учитывать, что ЦМВ, как и ВИЧ, сам по себе является сильнейшим иммуносупрессором и значительно снижает при развитии инфекции уровень клеточного и гуморального иммунного ответа, в некоторых случаях антитела могут вообще не образовываться, либо образовываться в неопределяемых количествах.

Для скрининга здоровых беременных женщин можно рекомендовать следующий алгоритм обследования:

Рекомендуется первоначально определить уровень анти-ЦМВ *IgG* антител, при обнаружении *IgG* любого уровня рекомендуется определить их индекс авидности, при получении отрицательного результата пациента следует отнести к группе риска и рассмотреть вопрос о назначении дополнительных исследований.

Наличие *IgG* антител следует рассматривать как признак инфицированности, поэтому рекомендуется обследовать пациента на наличие *IgM* антител к ЦМВ. При получении положительного результата, для подтверждения острой инфекции рекомендуется исследовать пробу методом ПЦР, при отрицательном результате обследования на *IgM*, рекомендуется дополнительно обследовать сыворотку на значение ИА, с целью исключить недавнее первичное инфицирование.

Алгоритм обследования здоровых беременных на цитомегаловирусную инфекцию.

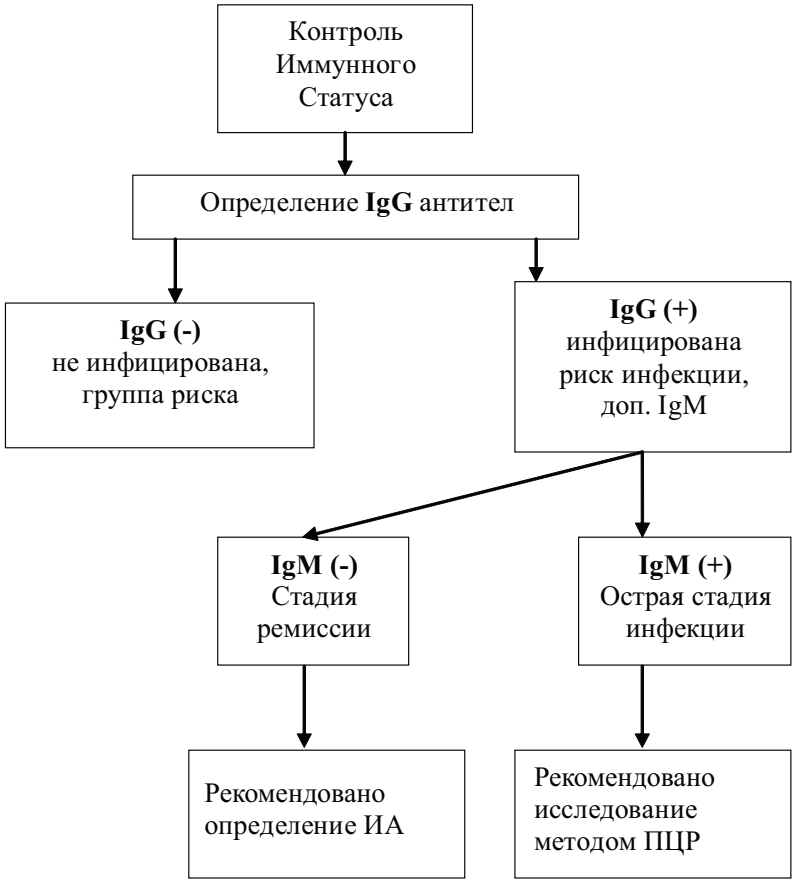


Схема 6

Результаты собственных исследований показали высокую частоту инфицированности беременных женщин герпетическими вирусами: у 88,9% беременных обнаружены *IgG* антитела к CMV. Кроме того, у 3,8 % обследованных беременных и у 1.5% новорожденных были выявлены *anti-CMV IgM*. Вместе с тем, зачастую у обследованных взрослых пациентов (беременные женщины, матери новорожденных, больные) при отсутствии *IgM* обнаруживались высокие уровни *IgG* антител к ЦМВ, которые можно было расценивать в качестве косвенного признака вирусемии и обострения инфекционного процесса, что подтверждалось данными ПЦР. Так, находки ДНК цитомегаловируса методом ПЦР при уровнях *anti-CMV IgG* 1-6 МЕ/мл, указывающих на стадию обострения (см. схематическую интерпретацию результатов в приложении), составляли 40%, при уровнях *anti-CMV IgG* более 10 МЕ/мл частота обнаружения ДНК ЦМВ методом ПЦР достигала 80%

Для ИФА - диагностики цитомегаловирусной инфекции рекомендуем использовать следующие тест-системы:.

№ по кат	Название	Формат	Срок годности, мес.	Дополнительная информация
200-07	«ЦМВ IgG»*	12x8	12	Тест-система для выявления и/или количественного определения антител класса IgG к цитомегаловирусу в сыворотке и плазме крови
200-08	«ЦМВ IgM»*	12x8	12	Тест-система для выявления и определения антител класса IgM к цитомегаловирусу в сыворотке и плазме крови, «μ-capture» вариант ИФА
200-09	«ЦМВ IgG-авидность»*	12x8	12	Тест-система для опредения авидности антител класса IgG к цитоегаловирусу в сыворотке и плазме крови

Таблица 3

* Тест-система адаптирована для работы с планшетным ИФА-анализатором «Alisei»

Герпетическая инфекция

Вирус простого герпеса (ВПГ) характеризуется широчайшей распространенностью среди населения Земного шара, являясь классическим примером убиквитарной инфекции. Антитела к обоим типам (ВПГ-1 и ВПГ-2) вируса простого герпеса обнаруживаются у 85-95% взрослого населения вне зависимости от страны, расы или климатической зоны.

Заражение ВПГ происходит через слизистые губ, ротовой по-

лости, носоглотки, половых органов, конъюнктивы, а также раневые поверхности кожи при контакте с вируссодержащей жидкостью (слюна, моча, кровь, сперма и проч.). Пути передачи вируса многообразны и включают в себя контактно-бытовой, половой, парентеральный, воздушно-капельный и вертикальный пути. Следует отметить два пика инфицирования ВПГ: первый приходится на возрастную группу 1-4 года, когда циркулирующие в крови специфические материнские *IgG* антитела исчезают к концу первого года жизни ребенка. В результате контакта с уже инфицированными детьми и взрослыми происходит заражение преимущественно ВПГ-1. Уже к возрасту 8-9 лет анти-ВПГ-1 *IgG* антитела выявляются в крови у 65-75% детей. Второй пик инфицирования связан с началом половой жизни и приходится на возрастную группу 16-28 лет. В результате интенсивных половых контактов, включая незащищенный секс, происходит заражение преимущественно ВПГ-2.

В зависимости от локализации вируса, ВПГ подразделяется на герпес «верхнего пояса» с преимущественным поражением слизистой ротовой полости, губ, конъюнктивы и ассоциируемый чаще всего с ВПГ-1, а также «генитальный» герпес, передающийся преимущественно половым путем с поражением гениталий, промежности, анальной области и ассоциируемый чаще всего с ВПГ-2.

Первичная инфекция протекает манифестно только у 20-30% заразившихся, после чего инфекция переходит в латентную стадию, во время которой вирус персистирует в нервных ганглиях. В таком состоянии вирус может существовать годами, без каких-либо клинических проявлений.

Среди инфицированных вирусом простого герпеса пациентов, только у 25-30% регистрируются клинические проявления герпетической инфекции, причем у большинства лиц эти проявления единичные.

Реактивация латентной инфекции происходит под влиянием иммуносупрессирующих факторов, вызывающих снижение клеточного иммунитета и выработку эндогенного интерферона. Классическим примером может служить «простуда», возникающая после длительного переохлаждения и завершающаяся картиной классического рецидива герпетической инфекции. Активизация инфекционного процесса при герпетических инфекциях, несмотря на клинические проявления в стадии обострения, иммунологически не сопровождается выработкой *IgM* антител, наличие которых отмечается только при первичной инфекции, наблюдающейся у подавляющего числа людей в детские и школьные годы.

Герпетическая инфекция, даже протекающая бессимптомно, способна вызвать целый ряд патологий беременности и новорожденного (многоводие, невынашивание плода, спонтанный аборт, внутриутробная инфекция, в том числе с летальным исходом). С другой стороны, следует подчеркнуть, что вертикальная передача ВПГ происходит крайне редко, только в случае первичного инфицирования. При реактивации латентной инфекции вероятность трансплацентарной передачи крайне незначительна ввиду невысокой концентрации вируса в крови и частичного защитного действия анти-ВПГ1/2 *IgG* антител.

Лабораторная диагностика герпетической инфекции основана как на выявлении антител к ВПГ1/2, так и на прямом определении вируса путем определения ДНК ВПГ1/2 методом ПЦР. Однако секреция вируса продолжается значительное время только при первичном инфицировании и может быть выявлена методом ПЦР на протяжении 4-6 недель, в то время как при рецидивах вирус секретируется не более 10 дней. При первичном инфицировании образуются анти-ВПГ1/2 *IgM* антитела, циркулирующие в крови до 10 недель, почти одновременно с IgM антителами начинают образовываться низкоавидные анти-ВПГ1/2 *IgG* антитела. К 4-6 неделе после инфицирования они сменяются высокоавидными *IgG* антителами, блокирующими секрецию вируса. Далее в сыворотке крови определяются высокоавидные антитела.

Поэтому *пренатальный скрининг здоровых беременных женщин на герпетические инфекции* проводят, прежде всего, по тестированию анти-ВПГ-1 *IgG* антител и анти-ВПГ-2 *IgG*, как и скрининг на цитомегаловирусную инфекцию.

Ввиду отсутствия *IgM* антител, критерием тяжести заболевания могут служить уровни *IgG* антител. Схематически интерпретация результатов исследования сывороток на антитела к ВПГ1/2 может

быть представлена следующим образом: низкий и средний уровень *IgG* антител – ремиссия, высокий уровень – обострение.

В работах И.Ф. Баринского с соавторами убедительно показана связь между уровнем вируснейтрализующих антител в крови к герпетическим вирусам и вирусемией, доказательством которой служило выделение из крови больных вирусов герпеса в системе культуры ткани.

При обнаружении высокого уровня *IgG* антител к герпетическим вирусам рекомендуется дополнительно тестировать сыворотки методом ПЦР, достоверно указывающем на присутствие вируса в организме.

Поскольку беременность представляет собой состояние физиологического иммунодефицита, в группу риска по герпетическим инфекциям должны быть отнесены, прежде всего, серопозитивные женщины, у которых наличие антител указывает на инфицированность герпетическими вирусами и подлежат дополнительному тестированию. Женщинам с отягощенным акушерским анамнезом или проходящих исследование перед ЭКО рекомендуется также выполнять дополнительно ПЦР-исследование.

Серонегативным беременным женщинам можно рекомендовать обследование на герпетические инфекции повторно только по клиническим показаниям.

На наш взгляд, вопросы тактики диспансерного наблюдения, профилактики и лечения герпетических инфекций у беременных представляются наименее разработанными и требуют дальнейшего изучения.

Поэтому для подтверждения лабораторного диагноза обострения (активизации) инфекционного процесса, сопровождающегося вирусемией, в качестве дополнительного теста можно использовать полимеразную цепную реакцию (ПЦР), позволяющую выявлять вирусный геном – ДНК вирусов простого герпеса (HSV 1/2) в плазме крови.

И последнее: женщины, имевшие в данной беременности поражение плода герпетическими вирусами, при последующей беременности не застрахованы от врожденных пороков развития плода, в отличие от краснухи и токсоплазмоза. Рекомендуется комплексное

лечение таких женщин, контроль лечения методом ПЦР и последующая беременность не ранее, чем через 2 года.

Результаты собственных исследований показали высокую частоту инфицированности беременных женщин герпетическими вирусами: у 91,4% беременных обнаружены *IgG* антитела к вирусам простого герпеса 1 и 2 типов. Вместе с тем, зачастую у обследованных взрослых пациентов (беременные женщины, матери новорожденных, больные) при отсутствии *IgM* обнаруживались высокие уровни *IgG* антител к ВПГ, которые можно было расценивать в качестве косвенного признака вирусемии и обострения инфекционного процесса, что подтверждалось данными ПЦР.

Для ИФА-диагностики герпетической инфекции рекомендуем использовать следующие тест-системы:

№ по кат	Название	Формат	Срок годности, мес.	Дополнительная информация
200-10	«ВПГ 1 IgG»*	12x8	12	Тест-система для выявления антител класса IgG к вирусу простого герпеса 1 типа сыворотке и плазме крови
200-11	«ВПГ 2 IgG»*	12x8	12	Тест-система для выявления антител класса IgG к вирусу простого герпеса 2 типа сыворотке и плазме крови
200-12	«ВПГ 1/2 IgM»*	12x8	6	Тест-система для выявления и определения антител класса IgM к вирусам простого герпеса 1 и 2 типов в сыворотке и плазме крови

Таблица 4

* Тест-система адаптирована для работы с планшетным ИФА-анализатором «Alisei»

ВЫВОДЫ

1) Пренатальный скрининг здоровых беременных женщин на ВУИ (краснуха, токсоплазмоз, цитомегалия, герпес) проводят по тестированию *IgG* антител. Интерпретацию результатов осуществляют в зависимости от уровня выявленных антител. При выявлении высоких уровней *IgG* антител показано обследование здоровых беременных женщин на специфические *IgM* антитела.

2) При обследовании *беременных женщин по клиническим показаниям* постановка лабораторного диагноза допустима только при одновременном обследовании образцов крови, взятых в адекватный период, на наличие специфических *IgG* и *IgM* антител.

3) Важными дополнительными тестами, помогающими при лабораторной диагностике ВУИ, являются тест на авидность *IgG* антител и ПЦР - анализ.

4) В ходе проведенных исследований установлено широкое распространение среди взрослого населения герпетических инфекций, о чем свидетельствует обнаружение *IgG* антител к ЦМВ у 88,9% и к ВПГ – 1,2 – у 91,4% обследованных. *IgG* антитела к токсоплазме и вирусу краснухи определяются реже (в 40,7% и 76,4% случаях, соответственно). Среди беременных прослойка неиммунных лиц к краснухе составила около 20%.

У беременных женщин *IgM* -антитела обнаруживали в 3,8% случаях – к ЦМВ, 3,4% - к токсоплазме и 2,7% - к краснухе. Эти показатели согласуются с частотой обнаружения *IgM* антител к указанным возбудителям у инфекционных больных: 5,2% - к ЦМВ, 1,6% - к токсоплазмозу и 41,3% - к краснухе.

У новорожденных детей частота обнаружения *IgM* -антител, указывающих на текущую ВУИ, была ниже и составила 1,5% - к ЦМВ, 0,3% - к токсоплазме и в 3-х случаях – к краснухе.

Таким образом, проведенные исследования показывают огромную важность серологических исследований к возбудителям TORCH-комплекса иммунохимическими методами с помощью тест-систем, обеспечивающих раздельное выявление специфических *IgG* и - антител, для диагностики и профилактики ВУИ и необходимость включения их в систему пренатального и неонатального скрининга.

Схематическая интерпретация результатов лабораторной диагностики ВУИ методом ИФА

Диапазон пороговых значений определяемых показателей:

Краснуха: *IgM* – от 100 до 1000% (cut off)
IgG – 15-300 МЕ/мл
Токсоплазмоз: *IgM* – от 100 до 600%
IgG – 6 - 300 МЕ/мл
Цитомегалия: *IgM* – от 100 до 300%
IgG – 1 -20 МЕ/мл
Герпес простой: *IgG* – 100 - 900 %

Наименование инфекции/маркера	Результаты анализа	Интерпретация
1. Краснуха *anti-Rubella IgG* (МЕ/мл)	Положительный > 15 Отрицательный < 10 Сомнительный – 10-15	Иммунитет Нет иммунитета Повторить анализ через 2-3 недели
anti-Rubella IgM (%)	Положительный – 100-5000 Отрицательный< 100 Сомнительный – 90-100	О.фаза болезни Нет заболевания
2. Токсоплазмоз *anti-TOXO IgG* (МЕ/мл)	Положительный > 6 Отрицательный < 2 Сомнительный – 2-6	 Нет инфицирования Повторить анализ через 2-3 недели
anti-TOXO IgM (%)	Положительный – 100-600 Отрицательный < 90 Сомнительный – 90-100	О.фаза болезни Повторить анализ через 2-3 недели
3. Цитомегалия *anti-CMV IgG* (МЕ/мл)	Положительный – 1- 6 Положительный - 6-10 Положительный > 10 отрицательный	Ремиссия Обострение болезни О.фаза болезни Нет инфицирования (заболевания)
anti-CMV IgM (%)	Положительный – 100-300 Отрицательный < 90 Сомнительный – 90-100	О.фаза болезни Повторить анализ через 2-3 недели
4. Герпес простой 1, 2 серотипов *anti-HSV 1 / 2* общ. (%)	Положительный – 100 - 400 Положительный–400-800 Положительный > 800 Отрицательный< 100	Ремиссия Обострение болезни О.фаза болезни Нет инфицирования (заболевания)

Таблица 5

Список литературы

1. **Баринский И.Ф., Шубладзе А.К., Каспаров А.А., Гребенюк В.И.** Герпес (этиология, диагностика, лечение).- М.- 1986.- 206 с.
2. **Баткаев Э.А.** Проблемы лечения урогенитального хламидиоза. Вестник последипломного мед. образования.- 2002.-№ 3.- С. 13-19.
3. **Башмакова М.А.** Хламидиоз. Современные подходы к диагностике и лечению: Пособие для врачей. М.- 1999.- 61 с.
4. **Бойцов А.Г., Иванов В.П.**, и др. Введение в клиническую иммунологию. СПбГМА им. Мечникова.- СПб, 1999.- С. 116.
5. **Бочаров А.Ф., Кицак В.Я., Бочаров Е.Ф., Трухачев А.А.** Вирус простого герпеса.- Новосибирск.- 1982.- 322 с.
6. **Брико Н.И.** Вакцинопрофилактика кори, краснухи и паротита и оценка ее эффективности. Consilium Medicum. – 2001. - № 8. – С. 10-15.
7. **Воропаев Е.В., Матвеев В.А., Черновицкий М. А., Жаворонок С. В.** Герпесвирусная инфекция, краснуха при врожденных пороках развития. Российский вестник перинаталогии и педиатрии.- 1999.- №3.- С.55.
8. **Дэвис П. А., Готерфорс Л. А**. Бактериальные инфекции плода и новорожденного. – М.: Медицина, 1987. – 496 с.
9. **Голиусов А.Т., Воробьева М.С., Михайлов М.И., Жибурт Е.Б., Буравцова Е.В.** и др. Быстрые и простые методы определения вирусных инфекций в лабораторной службе России: метод. рекомендации, под ред. Акад. РАМН Покровского В.В.-Москва, 2004.-124 с.
10. **Дранник Г.М.** Клиническая иммунология и аллергология.- Одесса: Астропринт.- 1999.- 603 с.
11. **Дробченко С.Н., Носков Ф.С., Хершберг М.** Быстрые простые тесты ИммуноКомб. Вторая международная конференция. «высокие медицинские технологии XXI века». Испания, Бенидорм. Материалы конференции.- 2003.- С. 41.
12. **Жибурт Е.Б., Серебрянная Н.Б.** и др. О механизмах активации цитомегаловирусной инфекции. Терапевтический архив.- 1997.-№ 11.- с. 40-41.
13. **Зверев В.В., Десятскова Р.Г.** Врожденная краснуха. Бюллетень Вакцинация.- 2004.- ноябрь/декабрь.
14. **Кицак В.Я.** Роль вирусных инфекций в патологии беременных, плода и новорожденных и механизмы реализации. Вестник последипломного медицинского образования.- 1997.- №1.- С. 58-61.
15. **Кицак В.Я.** «Парент»-вирусы: роль в перинатальной патологии. Успехи теоретической и клинической медицины.- 2001.- вып. 4.- с. 354-356.
16. **Коваленко Е.В.** Особенности иммунного статуса у больных хламидиозом. Полимеразная цепная реакция цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний: Матер. 2-й Всерос. научно-практической конф., 20-22 янв. 1998 г. М.- 1998.- С. 20-21.
17. **Коровина Н.А., Заплатников А.Л.** и др. Цитомегаловирусная инфекция у детей раннего возраста (клиника, диагностика, современные возможности терапии): руководство для врачей.- М.: Посад.- 1999.- С.56.
18. Краснуха. Синдром врожденной краснухи. (Информационный сборник).- Москва, Санкт-Петербург.- 1997.- 64 с.
19. **Куляш Г.Ю.** Персистирующая урогенитальная хламидийная инфекция: возможности и нерешенные вопросы лабораторной и клинической диагностики. ИППП.- 2003.- № 3.- С. 3-8.
20. **Покровский В.И.** Инфекционные болезни и иммунология: учебник / **В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико** и др.- М.:ГЭОТАР-МЕД, 2003.- 816 с.
21. **Сидорова И.С., Макаров И.О.** и др. Особенности течения

беременности и исходы родов при внутриутробном инфицировании плода. Российский вестник перинаталогии и педиатрии.- 1997.- №1.- С.15-20.

22. **Сидорова И.С., Черниенко И.Н.** Внутриутробные инфекции: хламидиоз, микоплазмоз, герпес, цитомегалия. Российский вестник перинаталогии и педиатрии.- 1998.- №3.- С.7-13.
23. **Учайкин В.Ф., Слученкова Л.Д., Шамшева О.В**. В кн.: Краснуха. Синдром врожденной краснухи. Инф. Сб.- 1997.- С.39-45.
24. **Юминова Н.В.** Диагностика краснухи в Российской Федерации. Бюллетень Вакцинация.- 2004.- ноябрь/декабрь.
25. **Altman N.R.** Intracranial infection in children. Top Magn. Reson. Imaging. – 1993. – Vol. 5 – P. 143-60.
26. **Altshuler G.** Placentitis, with a new light on an old ToRCH. Obstet. Gynecol. Annu. – 1977. – Vol. 6. – P.197-221.
27. **Antsaklis A., Daskalakis G., Papantoniou N., Mentis A., Machalas S.** Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Prenatal Diagnosis.- 2002.- Vol. 22, Issue 12.- P. 1107-1111.
28. **Aslam M, Anderson J.L., Guglietti D, Cardwell D.** CMV-induced neonatal thrombocytopenia: a case report and review of the literature. Am J Perinatol. – 2007. – Vol. 24(7) – P. 429-34.
29 **Donley D.K.** TORCH infections in the newborn. Semin. Neurol.– 1993. – Vol.13 – P.106-15.
30. **Fine J.D., Arndt K.A.** The TORCH syndrome: a clinical review. J. Am. Acad. Dermatol. – 1985. – Vol. 12. – P. 697-706.
31. **França C.M., Mugayar L.R.** Intrauterine infections: a literature review. Spec. Care Dentist. – 2004. – Vol. 24 – P.250-3.
32. **Gerber S., Hohfeld P**. Screening for infectious diseases. Childs nervous System.: Springer-Verlag GmbH.- 2003.- Vol. 19, № 7-8.- P. 429-432.

33. **Glass R.B., Fernbach S.K., Norton K.I., Choi P.S., Naidich T. P.** The infant skull: a vault of information. Radiographics. – 2004. – Vol. 24 – P. 507-22.
34. **Greenough A.** The TORCH screen and intrauterine infections. Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed. – 1994. – Vol.70 – P.163-5.
35. **Hagberg H., Mallard C**. Antenatal brain injury: a etiology and possibilities of prevention. Semin Neonatol. – 2000.Vol. 5 – P.41-51
36. **Hedlund G.L., Boyer R.S.** Neuroimaging of postnatal pediatric central nervous system infections. Semin Pediatr Neurol. – 1999. – Vol. 6 – P. 299-317.
37. **Helfgott A.** TORCH testing in HIV-infected women. Clin. Obstet. Gynecol. –1999. – Vol. 42 – P. 149-62.
38. **Henderson K.C., Torch E.M.** Differential diagnosis of abdominal masses in the neonate. Pediatr. Clin. North Am. – 1977. – Vol. 24. – P. 557-78.
39. **Hoskins I. A.** Cordocentesis in isoimmunization and fetal physiologic measurement, infection, and karyotyping. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. – 1991. – Vol. 3. - P. 266-71.
40. **Imura S.** TORCH complex. Ryoikibetsu Shokogun Shirizu.- 2000.- № 30.- P. 462-465.
41. **Isada N.B., Paar D.P., Grossman J.H. 3rd, Straus S.E.** TORCH infections. Diagnosis in the molecular age. J. Reprod. Med. – 1992. – Vol. 37 – P. 499-507.
42. **Kapil A., Broor S., Seth P.** Laboratory tests for diagnosis of TORCH infections. Indian Pediatr. – 1992. – Vol. 29 – P.643-9.
43. **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. Vol. 15 – P.727-44.
44. **Mets M.B, Chhabra M.S.** Eye manifestations of intrauterine infections and their impact on childhood blindness. Surv Ophthalmol. - 2008 – Vol.53(2) – P. 95-111.
45. **Nadeem A., Khan S., Nadya J., Kazzi.** Yield and costs of screening growth-retarded infant for TORCH infections. Amer J

Prenatol.- 2000.- Vol. 17.- P. 131-136.

46. **Newton E.R.** Diagnosis of perinatal TORCH infections. Clin. Obstet. Gynecol. – 1999. – Vol. 42 – P. 59-70.
47. **Nissenson A.R., Agarwal R., Allon M., Cheung A.K., Clark W., Depner T., Diaz-Buxo J.A., Kjellstrand C., Kliger A., Martin K.J., Norris K., Ward R., Wish J.** Improving outcomes in CKD and ESRD patients: carrying the torch from training to practice. Semin Dial. – 2004. – Vol. 17 – P. 380-97.
48. **Primhak R.A., Simpson R.M.** Screening small for gestational age babies for congenital infection. Clin. Pediatr. (Phila). – 1982. – Vol. 21. – P. 417-20.
49. **Remington J.S., McLeod R., Thulliez P.** Toxoplasmosis. In: Remington JS., Klein J., eds. Infectious diseases of the fetus and nevborn infant. Philadelphia: W.B. Saunders.- 2001.- P.205-346.
50. **Smith R.R.** Neuroradiology of intracranial infection. Pediatr. Neurosurg. – 1992. –Vol. 18. - P. 92-104.
51. **Stamos J.K., Rowley A.H.** Timely diagnosis of congenital infections. Pediatr. Clin. North Am. – 1994. – Vol. 41 – P.1017-33.
52. **Stegmann B.J., Carey J.C.** TORCH Infections. Toxoplasmosis, Other (syphilis, varicella-zoster, parvovirus B19), Rubella, Cytomegalovirus (CMV), and Herpes infections. Curr Womens Health Rep. – 2002. – Vol. 2 – P. 253-8.
53. **Turbadkar D., Mathur M., Rele M.** Seroprevalence of torch infection in bad obstetric history. Indian journal of Medical Microbiology.- 2003.- Vol.21, № 2.- P. 108-110.
54. **Whitley R.J.** Neonatal herpes simplex virus infections. J. Med. Virol. – 1993. – Sup. 1. – P. 13-21.
55. **Xiaohong H., Xuenan X., Haruyuki H., Naoaki Y., Long-shan X., Naoyshi S., Ikio I.** rapid Immunochromatographik Test Using Recombinant SAG2 for Detection of Antibodies against Toxoplasma gondii in Cats. Journal of clinical microbiology.- Jan 2004.- P. 351-353.

Приложение 1. Приказ №50 от 10.02.2003

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРИКАЗ

10.02.2003 № 50

«О СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ АКУШЕРСКО-ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ В АМБУЛАТОРНО-ПОЛИКЛИНИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ»

В целях совершенствования акушерско-гинекологической помощи в амбулаторно-поликлинических учреждениях приказываю:

1. Утвердить:

1.1. Инструкцию по организации работы женской консультации (Приложение № 1).
1.2. Схемы динамического наблюдения беременных и родильниц (Приложение № 2).
1.3. Схемы динамического наблюдения гинекологических больных (Приложение № 3).
2. Контроль за выполнением настоящего приказа возложить на заместителя Министра здравоохранения Российской Федерации Шарапову О. В.

Министр
Ю. Л. Шевченко

Приложение № 2
УТВЕРЖДЕНО
Приказом Минздрава России
10.02.2003 № 50

Схемы динамичного наблюдения беременных и родильниц

Динамическому наблюдению подлежат все беременные, начиная с первой явки по поводу беременности, и родильницы.

При физиологическом течении беременности практически здоровой женщине рекомендуется повторно посетить врача акушера-гинеколога с результатами анализов и заключениями врачей через 7-10 дней после первого обращения, а затем 1 раз в месяц до 28 нед. беременности; после 28 нед. беременности 2 раза в месяц. Частота наблюдения врачом акушером-гинекологом может быть установлена до 6-8 раз (до 12 нед., 16 нед, 20 нед, 28 нед, 32-33 нед, 36-37 нед) при условии регулярного наблюдения специально подготовленной акушеркой.

При выявлении соматической или акушерской патологии частота посещений врача акушера-гинеколога возрастает.

Объем обследования беременных с акушерской, экстрагенитальной патологией и наличием факторов риска включает также перечень исследований, указанный при физиологической беременности.

В последующих разделах приведены согласно диагнозу частота наблюдения врачом акушером-гинекологом, осмотр других специалистов, лабораторные и другие исследования, основные лечебно-оздоровительные мероприятия, показания к госпитализации.

Схемы динамического наблюдения беременных и родильниц

Диагноз	Частота наблюдения врачом акушером-гинекологом	Осмотр врачами других специальностей	Лабораторные и другие исследования	Основные лечебно-оздоровительные мероприятия	Показания к госпитализации
		I. Физиологическая беременность			
	За время беременности 10 раз: после первого осмотра явка через 7-10 дней с анализами, заключением терапевта и других специалистов; в дальнейшем - 1 раз в месяц до 28 нед., 2 раза в месяц - после 28 нед. беременности. Частота наблюдений может быть 6-8 раз при наблюдении акушеркой каждые 2 недели, после 37 нед. - каждые 7-10 дней. При выявлении патологии частота посещений врача акушера-гинеколога возрастает.	Терапевт - 2 раза; окулист, отоларинголог, стоматолог - 1 раз при первой явке, в дальнейшем - по показаниям; другие специалисты - по показаниям	Клинический анализ крови 3 раза (при первом посещении, при сроке 18 и 30 нед.); анализ мочи при каждом посещении; микроскопическое исследование отделяемого влагалища 2 раза (при первом посещении и сроке 30 нед.); группа крови и Rh-фактор; при резус-отрицательной принадлежности - обследование мужа на групповую и Rh-принадлежность; анализ крови на RW - 3 раза (при первом посещении, сроке 30 нед., за 2-3 нед. до родов); анализ крови на ВИЧ - 2 раза (при первом посещении и сроке 30 нед.); УЗИ - 3 раза (при сроке 10-14 нед., 20-24 нед., 32-34 нед.). Исследование крови на АФП, ХГЧ в 16-20 нед. **При первом посещении рекомендуется обследование на наличие возбудителей TORCH-комплекса** и носительство вирусов гепатита В и С (тест на гепатит В и С повторяется в III триместре). Тест шевеления плода с 28 нед.; оформление гравидограммы при каждом посещении.	Гигиена беременной; режим труда и отдыха; диета; физио-психопрофилактическая подготовка к родам; ультрафиолетовое облучение; витаминотерапия; профилактика йоддефицитных состояний; бандаж	

Таблица 6

II. Беременность патологическая (акушерская патология)					
Невынашивание беременности:- вне беременности	В соответствии с графиком обследования	Эндокринолог, невропатолог, окулист, терапевт, генетик, физиотерапевт	Клинический анализ крови, мочи. Измерение ректальной температуры; гистеросальпингография на 18-20-й день менструального цикла с измерением диаметра истмуса; 17-КС на 5-й день цикла и на 4-й день повышения ректальной температуры; бактериологическое и вирусологическое исследование отделяемого и мазков из цервикального канала (цитомегаловирусная инфекция, генитальный герпес, хламидии, микоплазма) на 3-5-й день менструального цикла; исследование на TORCH-комплекс и Rh-принадлежность крови супругов, определение групповых и Rh-антител, биохимический анализ крови (глюкоза, общий белок), гемостазиограмма; исследование крови на наличие волчаночного антикоагулянта (ВА) и антитела к ХГЧ, рентгенография черепа и турецкого седла по показаниям; гистероскопия (для выявления внутриматочных синехий); медико-генетическое обследование, УЗИ органов малого таза; спермограмма;.		
- вне беременности, обусловленное инфекционным генезом	То же	То же	Микроскопическое исследование отделяемого влагалища; бактериологическое и вирусологическое исследование отделяемого и мазков из цервикального канала (цитомегаловирусная инфекция, генитальный герпес, хламидии, микоплазма); вирусурия; исследование крови на иммунный и интерфероновый статус; гистохимическое исследование лимфоцитов крови.	Антибактериальная терапия в сочетании с энзимотерапией (вобэнзим, флогензим) с 1 по 7 день менструального цикла с одновременным и аналогичным лечением мужа; с 7-го дня цикла в течение 2-х нед. прием иммуномодулирующих препаратов и индукторов интерферона (имунофан в/м через день №10); при недостаточном эффекте терапии или при сочетании с аутоиммунными нарушениями применение плазмафереза или эндоваскулярное лазерное облучение крови.	То же

Таблица 6

во время беременности: I триместр	1 раз в 2 нед.	То же	Дополнительно к объему рутинного обследования: бактериологический и бактериоскопический мониторинг отделяемого влагалища и цервикального канала 1 раз в 2-3 нед.; исследование отделяемого из цервикального канала на наличие указанных выше вирусов.	Комплексы метаболической терапии 1 раз в 10 дней; иммуноглобулин в/в кап. 3 раза через день; иммуноцитотерапия лимфоцитами мужа	То же
- II триместр	То же	То же	Контроль за состоянием шейки матки каждые 2 нед.; при угрозе прерывания беременности или при коррекции ИЦН - микроскопический и бактериологический мониторинг отделяемого и мазков из влагалища и цервикального канала 1 раз; при отсутствии угрозы или коррекции ИЦН – 1 раз в 2-3 нед.; вирусологическое исследование отделяемого цервикального канала; **определение специфических антител к вирусам ЦМВ и ВПГ;** исследование в крови АФП, ХГЧ, эстриола и 17 ОП в 16-20 нед.	Своевременная коррекция истмико-цервикальной недостаточности; антибактериальная и энзимотерапия по показаниям; комплексы метаболической терапии с интервалом в 10 дней; иммуноглобулин в/в кап 3 раза через день: противовирусные препараты (виферон, интерферон альфа-2 1 св. 2 раза в течение 10 дней), неспецифические иммуностимуляторы (женьшень, элеутерококк); профилактика плацентарной недостаточности. Санация влагалища по показаниям с использованием эубиотиков. .	То же
- III триместр	То же	То же	Бактериоскопическое исследование отделяемого влагалища 1 раз в 2 нед.; бактериологическое и вирусологическое исследование отделяемого и мазков из цервикального канала 1 раз в 2 нед.; **определение специфических антител к ЦМВ и ВПГ;** противоспалительные цитокины в крови и слизи из цервикального канала (по показаниям). УЗИ плода, допплерометрия и КТГ в динамике.	Комплекс метаболической терапии через 10 дней; иммуноглобулин в/в кап 3 раза через день; противовирусные препараты (свечи виферона 1 раз ежедневно в течение 10 дней) профилактика плацентарной недостаточности. Санация влагалища (по показаниям). Плазмаферез.	
Инфекция половых путей при беременности 2	До 30 нед. - 2 раза в 1 мес.; после 30 нед. - 3-4 раза в 1 мес.	По показаниям.	Клинический анализ крови, мочи. Бактериоскопическое и бактериологическое исследование отделяемого из влагалища, цервикального канала, уретры. Серологическое исследование крови	Санация влагалища с последующим введением эубиотиков. Комплексы метаболической терапии. Комплексный иммуноглобулиновый препарат	Обследование и лечение
Краснуха или контакт с больным краснухой	Осмотр в начале и конце заболевания. При контакте с краснухой – частота осмотров не меняется	Консультация инфекциониста	Определение титра антител к вирусу краснухи на 7-10-й день после начала заболевания или контакта с больным, повторить через 2 нед. При заболевании обязательно УЗИ плода в 10-14, 20-24 нед., в дальнейшем - по показаниям. Определение уровня АФП, ХГЧ, эстриола в 16-20 нед.; КТГ, допплерометрия в динамике.	При заболевании - прерывание беременности до 12 нед.; при сохранении беременности - лечение, направленное на ее сохранение	Для прерывания беременности

Таблица 6

Приложение 2. Инструкция к наборам реагентов для диагностики TORCH-инфекций методом ИФА.

Кат. № 200-05 Краснуха IgM

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса *IgM* против вируса краснухи в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на твердофазном иммуноферментном анализе, вариант «capture». В качестве ферментной метки в наборе применяется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации антитела класса *IgM* против вируса краснухи (если они есть в образце) улавливаются антителами против **μ-цепей иммуноглобулинов М человека**, адсорбированными на твердой фазе (в лунках планшета). С помощью промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение двух следующих инкубаций комплекс «антиген вируса краснухи - биотинилированные антитела» сначала реагирует со связанными антителами *IgM* против вируса краснухи, а стрептавидин, меченый пероксидазой хрена, взаимодействует с биотином. После цикла промывок в лунки добавляется раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента. Реакция останавливается добавлением Стоп-реагента (HCl). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Содержание антител класса *IgM* в образцах и контролях прямо пропорционально измеренной интенсивности окраски раствора.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 лунок

Хранить при температуре 2-8°С.

Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.

Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MTP): лунки стрипов планшета покрыты антителами против **μ-цепей иммуноглобулинов М человека**.

Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Положительный контроль (POS): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgM* к вирусу краснухи. Готов к использованию.

Cut-off контроль (C/O): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgM* к вирусу краснухи. Готов к использованию.

Антиген вируса краснухи (Ag): 7 флаконов, содержат инактивированный антиген вируса краснухи. Перед использованием восстановите содержимое каждого флакона с помощью 2,5 мл раствора конъюгат/биотин. Восстановленный реагент хранить в течение 10 дней при температуре 2-8°С.

Конъюгат/биотин (CONJ/BIO): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержащий моноклональные антитела против вируса краснухи, конъюгированные с биотином. Готов к использованию.

Конъюгат (CONJ): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержащий стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена (HRP). Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): 1 флакон. Фосфатный буферный раствор, содержащий Твин 20. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата дистиллированной водой в соотношении 1:20. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения (DIL): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Готов к использованию.

Отрицательный контроль (NEG): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgM* к вирусу краснухи. Готов к использованию.

Раствор ТМВ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент (STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.
Бумага для заклеивания планшета (СРА).
Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов*:* 1:100

Лунки / Реагенты	Blank	Контроли	Образцы
Отрицательный, положительный и cut-off контроли NEG POS C/O	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----

Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин.
Промывка: 4 х 350 мкл.

Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин
Промывка: 4 х 350 мкл

Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Инкубация: вариант А: 37±2°С, 10 мин; вариант В: комнатная температура, 15 мин

Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считывание: 450-405 nm.

Таблица 7

Учет результатов

Следует определить оптическую плотность (ОП) отрицательного контроля, положительного контроля и Cut-off контроля (пороговое значение). Присутствие или отсутствие антител класса *IgM* против вируса краснухи определяется путем сравнения ОП образца с ОП Cut-off Контроля (пороговое значение).

Образцы с ОП ниже ОП Cut-off признают не реактивными (не содержащими антитела класса *IgM* против вируса краснухи).

Образцы с ОП выше ОП Cut-off признают реактивными (содержащими антитела класса *IgM* против вируса краснухи).

Область значений ОП ± 10% от ОП Cut-off Контроля является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, результат считается сомнительным и требуется повторное

тестирование для подтверждения.

Интерпретация результатов

Результат определяется как отношение ОП образца к ОП Cut-off контроля. Эта величина называется индексом.

$$\text{Индекс} = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОП Cut-off контроля}}$$

Образцы с Индексом < 0,9 признают отрицательными по содержанию антител класса *IgM* против вируса краснухи.

Образцы с Индексом > 1,1 признают положительными по содержанию антител класса *IgM* против вируса краснухи.

Образцы с Индексом 0,9 – 1,1 (ОП ± 10% от Cut-off контроля) считаются сомнительными и требуют повторного тестирования.

Характеристики анализа

Диагностическая специфичность составляет 100%.

Диагностическая чувствительность 96,4%.

Кат. № 200-04 Краснуха IgG

Набор реагентов для качественногои/или количественного иммуноферментного определения антител класса *IgG* Против вируса краснухи в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА).

В качестве ферментной метки в наборе применяется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации анти тела класса *IgG* против вируса краснухи (если они есть в образце) связываются с антигеном вируса, адсорбированном на твердой фазе (в лунках планшета). С помощью промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение следующей инкубации антитела против *IgG* человека, меченые пероксидазой хрена, взаимодействуют с комплексом антиген вируса краснухи – антитело. После цикла промывок в лунки добавляется

раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента. Реакция останавливается добавлением Стоп-реагента (HCl). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Содержание антител класса *IgG* в образцах и калибраторах прямо пропорционально измеренной интенсивности окраски раствора.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 или на 192 лунки.
Хранить при температуре 2-8°С.
Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.
Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MPT): лунки стрипов планшета покрыты очищенным и инактивированным антигеном вируса краснухи. Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Калибраторы (CAL): растворы на основе сыворотки крови содержат антитела класса *IgG* против вируса краснухи в следующих концентрациях: 15, 30, 60, 120 и 240 МЕ/мл. Готовы к использованию. Растворы калибраторов 30, 60, 120, 240 МЕ/мл красного цвета, раствор калибратора 15 МЕ/мл – голубого цвета. Калибраторы аттестованы по 2 Международному Стандарту ВОЗ 67/182, 1986.

Конъюгат (CONJ): Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержит мышиные моноклональные антитела против *IgG* человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRP). Готов к использованию.

Промывочный раствор 20х (WASH): Фосфатный буферный раствор. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата дистиллированной водой в соотношении 1:20. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения 20х (DIL): Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Непосредственно перед употреблением

разведите в отношении 1:20 подготовленным к использованию промывочным раствором. Приготовленный раствор для разведения хранить 30 дней при 2-8°С.

Отрицательный контроль(NEG): раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgG* к вирусу краснухи. Готов к использованию. Может использоваться как:

1) Отрицательный контроль в качественном анализе.

2) Калибратор с концентрацией 0 МЕ/мл в количественном анализе.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент (STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA).

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов*:* 1:300

Лунки / Реагенты	Blank	Калибраторы и контроли	Образцы
Калибраторы и контроли NEG CAL	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.			
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин. Промывка: 4 х 350 мкл			
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: вариант А: 37±2°С, 10 мин; вариант В: комнатная температура 15 мин.			
Стоп-реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Считывание: 450-405 nm.			

Таблица 8

Учет результатов

Качественный анализ

Следует определить оптическую плотность (ОП) Отрицательного Контроля и Cut-off калибратора (15 МЕ/мл: пороговое значение). Присутствие или отсутствие антител класса *IgG* против вируса краснухи определяется путем сравнения ОП образца с ОП Cut-off калибратора.

Образцы с ОП ниже ОП Cut-off признают не реактивными (не содержащими антитела класса IgG против вируса краснухи).

Образцы с ОП выше ОП Cut-off признают реактивными (содержащими антитела класса *IgG* против вируса краснухи).

Область значений ОП ± 10% от ОП калибратора является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, результат считается сомнительным и требуется повторное тестирование для подтверждения.

Количественный анализ

Отрицательный контроль является первой точкой калибровочной кривой (0 МЕ/мл антител класса *IgG* против вируса краснухи).

Калибровочная кривая строится в линейных координатах, где по оси X откладывают концентрации каждого калибратора, а по оси У – ОП каждого калибратора. Соответствующие концентрации исследуемых образцов (МЕ/мл) получаются путем интерполяции ОП образца на калибровочной кривой.

Образцы с концентрацией *IgG* антител менее 15МЕ/мл признают не реактивными.

Образцы с концентрацией *IgG* антител более 30МЕ/мл признают реактивными.

Образцы с концентрацией *IgG* антител в диапазоне от 15 до 30МЕ/мл признают сомнительными.

Интерпретация результатов

Нереактивные образцы признают отрицательными по содержанию антител *IgG* класса против вируса краснухи.

Реактивные и сомнительные образцы признают положительными

по содержанию антител *IgG* класса против вируса краснухи.

Образцы сыворотки крови, последовательно полученные от одного пациента, должны сравниваться только при исследовании в одном и том же анализе. В этом случае 60% увеличение ОП во втором образце является значимым признаком недавней или развивающейся инфекции. В этом случае образцы тестируются на присутствие специфических *IgM*.

Характеристики анализа

Диагностическая специфичность составляет 97,2%.

Диагностическая чувствительность составляет 100%.

Аналитическая чувствительность Аналитическая чувствительность может выражаться минимальным количеством определяемого аналита, выявляемым данным набором Предел детекции составляет 0,4 МЕ/мл (99% доверительный интервал).

Кат. № 200-06 Краснуха IgG-авидность

Набор реагентов для иммуноферментного определения авидности антител класса *IgG* против вируса краснухи в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА), в котором сыворотки пациентов, внесенные в лунки микропланшета в дубликатах, реагируют с антигеном вируса краснухи, иммобилизованным на внутренней поверхности лунок. После первой инкубации планшет промывают, а парные лунки инкубируют с разными буферными растворами, один из которых содержит мочевину. Мочевина вызывает диссоциацию ранее образовавшегося комплекса антиген - антитело. Степень диссоциации зависит от авидности антител. После следующего цикла промывки связанные с твердой фазой антитела вступают в реакцию с антителами против *IgG* человека, меченными пероксидазой хрена, которая, в свою очередь, реагирует с раствором ТМБ. Интенсив-

ность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Процент авидности вычисляют как отношение между оптическими плотностями в парных лунках.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 лунок, что соответствует 45 определениям.

Хранить при температуре 2-8°С.

Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.

Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MTP): Планшет 12 стрипов по 8 лунок: внутренняя поверхность лунок покрыта очищенным и инактивированным антигеном вируса краснухи. Оставшиеся неиспользованными стрипы поместить в пластиковый пакет (прилагается) и плотно закрыть; хранить при температуре 2-8°С.

Низкоавидный контроль (CTR BA): 1 флакон. Лиофилизованный препарат красного цвета. Изготовлен на основе сыворотки крови, содержит низкоавидные *IgG* человека к вирусу краснухи. Перед использованием восстановите содержимое флакона в 2 мл деионизованной воды. Восстановленный реагент хранить в течение 2 месяцев при температуре 2-8°С. Для длительного хранения заморозить до -20°С.

Высокоавидный контроль (CTR AA): 1 флакон. Лиофилизованный препарат синего цвета. Изготовлен на основе сыворотки крови, содержащей высокоавидные человеческими *IgG* к вирусу краснухи. Перед использованием восстановите содержимое флакона в 2 мл деионизованной воды. Восстановленный реагент хранить в течение 2 месяцев при температуре 2-8°С. Для длительного хранения заморозить до -20°С.

Реагент для диссоциации (DISS): 1 флакон. Содержит буферный раствор с мочевиной. Готов к использованию.

Конъюгат (CONJ): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержащий мышиные моноклональные

антитела против *IgG* человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRPO). Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): 1 флакон. Содержит фосфатный буферный раствор и Твин 20. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата в соотношении 1:20 дистиллированной водой. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения образцов 20x (DIL): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Непосредственно перед применением разведите концентрат в соотношении 1:20 подготовленным к использованию промывочным раствором. Приготовленный раствор для разведения хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) в цитратно-фосфатном буфере, содержащий DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп реагент (STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA).

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов: 1:300

Лунки / Реагент	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1	H1
Низкоавидный контроль CTR BA	----	----	100 мкл	100 мкл	----	----	----	----
Высокоавидный контроль CTR AA	----	----	----	----	100 мкл	100 мкл	----	----
Образец	----	----	----	----	----	----	100 мкл	100 мкл

Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин.
Промывка: 4 х 350 мкл.

Раствор для разведения DIL	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----
Реагент для диссоциации DISS	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл

Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин.
Промывка: 4 х 350 мкл.

Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин.
Промывка: 4 х 350 мкл.

Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Инкубация: А: 37±2°С, 10 мин.

Стоп реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считывание при длине волны 450 и 405 нм.

Таблица 9

Учет результатов

Вычтите среднее значение оптической плотности (ОП) лунок А1, В1 из значений ОП других лунок.

Убедитесь, что ОП каждого образца, инкубированного с Раствором для разведения образцов, > 0,300.Если это так, можно выполнить расчеты. Если ОП образца < 0,300, это свидетельствует, что образец не содержит достаточную концентрацию антител для определения авидности *IgG* (пациент либо не имеет иммунитета к инфекции вирусом краснухи, либо находится в периоде, когда иммунный ответ еще не сформирован).

Для каждого образца и контроля рассчитайте процентное отношение ОП лунки, инкубированной с Реагентом для диссоциации и ОП лунки, инкубированной с Раствором для разведения.

ОП с Реагентом для диссоциации
---------- x 100 = % Авидности
ОП с Раствором для разведения

Если ОП образца при длине волны 450 нм >3,000 в любой из лунок, следует измерить ОП повторно при длине волны 405 нм. Процент авидности рассчитывается по формуле (см выше) на основании ОП при 405 нм.

Интерпретация результатов

% авидности > 60% =	IgG к вирусу краснухи с высокой авидностью
% авидности 50-60% =	IgG к вирусу краснухи со средней авидностью (т.е. «серая зона»)
% авидности < 50% =	IgG к вирусу краснухи с низкой авидностью

Таблица 10

Характеристики анализа

Диагностическая специфичность составляет 100%.
Диагностическая чувствительность составляет 87,8%.

Кат. № 200-02 Токсоплазма IgM

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса *IgM* против Toxoplasma gondii в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на иммуноферментном твердофазном анализе вариант «capture». В качестве ферментной метки в наборе применяется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации антитела класса *IgM* против токсоплазмы (если они есть в образце) улавливаются антителами против μ-цепей иммуноглобулинов М человека, адсорбированными на твердой фазе (в лунках планшета). С помощью промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение двух следующих инкубаций комплекс «антиген токсоплазмы - биотинилированные антитела» реагирует со связанными антителами *IgM* против токсоплазмы, далее стрептавидин, меченный пероксидазой хрена взаимодействует с биотином. После цикла промывки в лунки добавляется раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента. Реакция останавливается добавлением стоп-реагента (HCL). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Содержание антител класса *IgM* в образцах и контролях прямо пропорционально интенсивности окраски раствора.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 или на 192 лунки.
Хранить при температуре 2-8°С.
Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.
Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (МРТ): лунки стрипов планшета покрыты антителами против μ-цепей иммуноглобулинов человека. Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Положительный контроль (POS): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgM* к токсоплазме. Готов к использованию.

Cut-off контроль (C/O): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgM* к токсоплазме. Готов к использованию.

Антиген токсоплазмы: 7 флаконов, содержат инактивированный антиген токсоплазмы. Перед использованием восстановите содержимое каждого флакона с помощью 2,5 мл раствора конъюгат/биотин. Восстановленный реагент хранить в течение 10 дней при температуре 2-8°С.

Конъюгат/биотин (CONJ|BIO): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержит моноклональные антитела против токсоплазмы, конъюгированные с биотином. Готов к использованию.

Конъюгат (CONJ): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержит стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена (HRP). Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): 1 флакон. Фосфатный буферный раствор, содержащий Твин 20. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата дистиллированной водой в соотношении 1:20. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения (DIL): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Готов к использованию.

Отрицательный контроль (NEG): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgM* к токсоплазме. Готов к использованию.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем DMSO и H_2O_2. Готов к

использованию.

Стоп-реагент(STOP): 1 флакон.1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (СРА).

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов: 1:100

Лунки / Реагенты	Blank	Контроли	Образцы
Отрицательный, положительный и cut-off контроли NEG POS C/O	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.			
Раствор антигена в конъюгате с биотином Ag+CONJ BIO	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.			
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин. Промывка: 4 х 350 мкл			
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: вариант А: 37±2°С, 10 мин; вариант В: комнатная температура, 15 мин			
Стоп-реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считывание: 450-405 nm

Таблица 11

Учет результатов

Следует определить оптическую плотность (ОП) отрицательного контроля, положительного контроля и cut-off контроля. Присутствие или отсутствие антител класса *IgM* против Toxoplasma gondii определяется путем сравнения ОП образца с ОП Cut-off контроля (пороговое значение).

Образцы с ОП ниже ОП Cut-off контроля признают не реактивными (не содержащими антитела класса *IgM* против Toxoplasma gondii).

Образцы с ОП выше ОП Cut-off контроля признают реактивными (содержащими антитела класса *IgM* против Toxoplasma gondii).

Область значений ОП ± 10% от ОП Cut-off контроля является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, требуется повторное тестирование для подтверждения.

Интерпретация результатов

Результат определяется как отношение ОП образца к ОП Cut-off контроля. Эта величина называется индексом.

$$\text{Индекс} = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОП Cut-off контроля}}$$

Образцы с Индексом < 0,9 признают отрицательными по содержанию антител *IgM* класса против токсоплазмы.
Образцы с Индексом > 1,1 признают положительными по содержанию антител *IgM* класса против токсоплазмы.
Образцы с Индексом 0,9 – 1,1 (ОП ± 10% от Cut-off контроля) считаются сомнительными и требуют повторного тестирования.

Характеристики анализа

Диагностическая специфичность составляет 98,2%.
Диагностическая чувствительность составляет 98,1%.

Кат. № 200-01 Токсоплазма IgG

Набор реагентов для качественного и/или количественного иммуноферментного определения антител класса *IgG* против Toxoplasma gondii в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип действия данного набора основан на твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА). В качестве ферментной метки в наборе применяется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации антитела класса *IgG* против токсоплазмы (если они есть в образце) связываются с антигеном токсоплазмы, адсорбированном на твердой фазе (в лунках планшета). С помощью промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение следующей инкубации антитела против *IgG* человека, меченые пероксидазой хрена, взаимодействуют с комплексом антиген токсоплазмы – антитело. После цикла промывки в лунки добавляется раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента. Реакция останавливается добавлением стоп-реагента (HCl). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Содержание антител класса *IgG* в образцах и калибраторах прямо пропорционально интенсивности окраски раствора.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 или на 192 лунки.
Хранить при температуре 2-8°С.
Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.
Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MTP): лунки стрипов планшета покрыты очищенным и инактивированным антигеном токсоплазмы. Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Калибраторы (CAL): растворы на основе сыворотки крови. Содержат IgG против токсоплазмы в следующих концентрациях: 15, 30, 60, 120 и 240 МЕ/мл. Готовы к использованию. Растворы калибраторов 30, 60, 120, 240 МЕ/мл красного цвета, раствор калибратора 15 МЕ/мл – голубого. Калибраторы аттестованы по 2 Международному Стандарту (SSI), 1980.

Конъюгат (CONJ): Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержащий мышиные моноклональные антитела против *IgG* человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRPO). Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): Фосфатный буферный раствор, содержащий Tween 20. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата дистиллированной водой в соотношении 1:20. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения (20x): Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Непосредственно перед употреблением

разведите в соотношении 1:20 подготовленным к использованию промывочным раствором. Приготовленный раствор для разведения хранить 30 дней при 2-8°С.

Отрицательный контроль (NEG): раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgG* к токсоплазме. Готов к использованию. Может использоваться как:

1) Отрицательный контроль в качественном анализе

2) калибратор с концентрацией 0 МЕ/мл в количественном анализе.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент (STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA).

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов*:* 1:300

Лунки / Реагенты	Blank	Калибраторы и контроли	Образцы
Калибраторы и контроли NEG CAL	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.			
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин Промывка: 4 х 350 мкл			
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: вариант А: 37±2°С, 10 мин; вариант В: комнатная температура, 15 мин			
Стоп-реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считывание: 450-405 nm.

Таблица 12

Учет результатов

Качественный анализ

Следует определить оптическую плотность (ОП) отрицательного

контроля и калибратора Cut-off (15 МЕ/мл: пороговое значение). Присутствие или отсутствие антител класса *IgG* против Toxoplasma gondii опреляется путем сравнения ОП образца с ОП калибратора Cut-off.

Образцы с ОП ниже ОП калибратора Cut-off признают не реактивными (не содержащими антитела класса *IgG* против Toxoplasma gondii).

Образцы с ОП выше ОП калибратора Cut-off признают реактивными (содержащими антитела класса *IgG* против Toxoplasma gondii).

Область значений ОП ± 10% от ОП калибратора Cut-off является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, требуется повторное тестирование для подтверждения.

Количественный анализ

Отрицательный контроль является первой точкой калибровочной кривой (0 МЕ/мл антител класса *IgG* против Toxoplasma gondii).

Калибровочная кривая строится в линейных координатах, где по оси Х откладывают концентрацию каждого калибратора, а по оси У – ОП каждого калибратора. Соответствующие концентрации исследуемых образцов (МЕ/мл) получаются путем интерполяции ОП образца на калибровочной кривой.

Образцы с концентрацией *IgG* антител менее 15МЕ/мл признают не реактивными.

Образцы с концентрацией *IgG* антител более 30МЕ/мл признают реактивными.

Образцы с концентрацией *IgG* антител в диапазоне от 15 до 30МЕ/мл признают слабо-реактивными.

Интерпретация результатов

Нереактивные образцы признают отрицательными по содержанию антител *IgG* класса против токсоплазмы.

Реактивные и сомнительные образцы признают положительными по содержанию антител *IgG* класса против токсоплазмы.

Образцы сыворотки крови, последовательно полученные от одного пациента, должны сравниваться только при исследовании в одном и том же анализе. В этом случае 60% увеличение ОП во втором об-

разце является значимым признаком недавней или развивающейся инфекции. В этом случае образцы тестируются на присутствие специфических *IgM*.

Характеристики анализа

Диагностическая специфичность составляет 99,1%.

Диагностическая чувствительность составляет 97,1%.

Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность может выражаться минимальным количеством определяемого аналита, выявляемым данным набором. Предел детекции составляет 0,6 МЕ/мл (99% доверительный интервал).

Кат. № 200-03 Токсоплазма IgG-авидность

Набор реагентов для иммуноферментного определения авидности антител класса *IgG* к Toxoplasma gondii в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип действия данного набора основан на твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА), в котором сыворотки пациентов, внесенные в лунки микропланшета в дубликатах, реагируют с антигеном токсоплазмы, иммобилизованным на внутренней поверхности лунок. После первой инкубации планшет промывают, а парные лунки инкубируют с разными буферными растворами, один из которых содержит мочевину. Мочевина вызывает диссоциацию ранее образовавшегося комплекса антиген - антитело. Степень диссоциации зависит от авидности антител.

После следующего цикла промывки связанные с твердой фазой антитела вступают в реакцию с антителами против *IgG* человека, меченными пероксидазой хрена, которая, в свою очередь, реагирует с раствором ТМБ (Тетраметилбензидин). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Процент авидности вычисляют как отношение между оптическими плотностями в парных лунках.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 лунок, что соответствует 45 определениям.

Хранить при температуре 2-8°С.

Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.

Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MTP): Планшет 12 стрипов по 8 лунок: внутренняя поверхность лунок покрыта очищенным и инактивированным антигеном токсоплазмы. Оставшиеся неиспользованными стрипы поместить в пластиковый пакет (прилагается) и плотно закрыть; хранить при температуре 2-8°С.

Низкоавидный контроль (CTR BA): 1 флакон. Лиофилизованый препарат красного цвета. Изготовлен на основе сыворотки крови, содержит низкоавидные *IgG* человека к токсоплазме. Перед использованием восстановите содержимое флакона в 2 мл деионизованной воды. Восстановленный реагент хранить в течение 2 месяцев при температуре 2-8°С. Для длительного хранения заморозить до -20°С.

Высокоавидный контроль (CTR AA): 1 флакон. Лиофилизованный препарат синего цвета. Изготовлен на основе сыворотки крови, содержащей высокоавидные человеческие *IgG* к токсоплазме. Перед использованием восстановите содержимое флакона в 2 мл деионизованной воды. Восстановленный реагент хранить в течение 2 месяцев при температуре 2-8°С. Для длительного хранения заморозить до -20°С.

Реагент для диссоциации (DISS): 1 флакон. Содержит буферный раствор с мочевиной. Готов к использованию.

Конъюгат (CONJ): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержащий мышиные моноклональные антитела против *IgG* человека, конъюгированные с пероксидазой хрена. Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): 1 флакон. Содержит фосфатный буферный раствор и Твин 20. Перед использованием разведите не-

обходимое количество концентрата в соотношении 1:20 дистиллированной водой. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения образцов 20х (DIL): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Непосредственно перед применением разведите концентрат в соотношении 1:20 подготовленным к использованию промывочным раствором. Приготовленный раствор для разведения хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) в цитратно-фосфатном буфере, содержащий DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент (STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA).

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов: 1:300

Лунки / Реагент	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1	H1
Низкоавидный контроль CTR BA	----	----	100 мкл	100 мкл	----	----	----	----
Высокоавидный контроль CTR AA	----	----	----	----	100 мкл	100 мкл	----	----
Образец	----	----	----	----	----	----	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин Промывка: 4 х 350 мкл								
Раствор для разведения образцов DIL	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----
Реагент для диссоциации DISS	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.								
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считывание при длине волны 450-405 нм

Таблица 13

Учет результатов

Вычтите среднее значение оптической плотности (ОП) лунок А1, В1 из значений ОП других лунок.

Убедитесь, что ОП каждого образца, инкубированного с Раствором для разведения образцов, > 0,300. Если это так, можно выполнять расчеты. Если ОП образца < 0,300, это свидетельствует, что образец не содержит достаточную концентрацию антител для определения авидности *IgG* (пациент либо не имеет иммунитета к инфекции вирусом краснухи, либо находится в периоде, когда иммунный ответ еще не сформирован).

Для каждого образца и контроля рассчитайте процентное отношение ОП лунки, инкубированной с Реагентом для диссоциации и ОП лунки, инкубированной с Раствором для разведения.

$$\frac{\text{ОП с Реагентом для диссоциации}}{\text{ОП с Раствором для разведения}} \times 100 = \%\ \text{Авидности}$$

Если ОП образца при длине волны 450 нм >3,000 в любой из лунок, следует измерить ОП повторно при длине волны 405 нм. Процент авидности рассчитывается по формуле (см. выше) на основании ОП при 405 нм.

Интерпретация результатов

% авидности > 30% =	IgG к Токсоплазме с высокой авидностью
% авидности 20-30% =	IgG к Токсоплазме со средней авидностью (т.н. «серая зона»)
% авидности < 20% =	IgG к Токсоплазме с низкой авидностью

Таблица 14

Характеристики анализа

Диагностическая специфичность составляет 90%.

Диагностическая чувствительность составляет 89%.

Кат. № 200-08 ЦМВ IgM

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса *IgM* против цитомегаловируса в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на иммуноферментном твердофазном анализе, вариант «capture». В качестве ферментной метки в наборе применяется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации антитела класса *IgM* против цитомегаловируса (если они есть в образце) улавливаются антителами против μ-цепей иммуноглобулинов человека, адсорбированными на твердой фазе (в лунках планшета). Посредством промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение последующей инкубации комплекс «антиген цитомегаловируса – биотинилированные антитела» реагирует с антителами *IgM* против цитомегаловируса, избыток антител удаляется при промывке. Во время третьей инкубации стрептавидин, меченный пероксидазой хрена, взаимодействует с биотином. После цикла промывки в лунки добавляется раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента. Реакция останавливается добавлением стоп-реагента (HCl). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Содержание антител класса *IgM* в образцах и контролях прямо пропорционально интенсивности окраски раствора.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 лунок

Хранить при температуре 2-8°С.

Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.

Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MTP): лунки стрипов планшета покрыты моноклональными антителами против иммуноглобулинов М человека. Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Положительный контроль (POS): 1 флакон. На основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgM* к цитомегаловирусу. Готов к применению.

Cut-off контроль (C/O): 1 флакон.На основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgM* к цитомегаловирусу. Готов к применению.

Антиген цитомегаловируса (Ag): 7 флаконов. Содержит инактивированный антиген цитомегаловируса. Перед использованием растворите содержимое каждого флакона в 2,5 мл раствора конъюгат/биотин. Восстановленный реагент хранить в течение 3 дней при температуре 2-8°С или 1 месяц при –20°С. Повторное замораживание не допускается.

Конъюгат/биотин (CONJ/BIO): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержит моноклональные антитела против цитомегаловируса, конъюгированные с биотином. Готов к использованию.

Конъюгат (CONJ): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержащий стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена (HRP). Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): 1 флакон. Фосфатный буферный раствор. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата дистиллированной водой в соотношении 1:20. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения (DIL): 1 флакон. Фосфатно-солевой буферный раствор со стабилизаторами. Готов к использованию.

Отрицательный контроль (NEG): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgM* к цитомегаловирусу. Готов к использованию.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буферном растворе, содержащем DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент (STOP): 1 флакон 1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA)

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов: 1:100

Лунки / Реагенты	Blank	Отрицательный контроль NEG	Контроль cut-off C/O	Положительный контроль POS	Образцы
Отрицательный контроль NEG	-----	100 мкл	-----	-----	-----
Контроль cut-off C/O	-----	-----	100 мкл	-----	-----
Положительный контроль POS	-----	-----	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----	-----	-----
Инкубация: 37°±2°С, 60±5 мин.' Удаление содержимого из лунок, промывка: 4 х 350 мкл.					
Раствор антигена в конъюгате с биотином Ag +CONJ BIO	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37°±2°С, 60±5 мин. Удаление содержимого из лунок, промывка: 4 х 350 мкл.					
Конъюгат с пероксидазой CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37°±2°С, 30±2 минут' Удаление содержимого из лунок, промывка: 4 х 350 мкл.					
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37°С±2°С, 20±2 мин.'					
Стоп-реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Считывание: 450-405 nm.					

Таблица 15

Учет результатов

Следует определить оптическую плотность (ОП) отрицательного контроля, положительного контроля и cut-off контроля. Присутствие или отсутствие антител класса *IgM* против цитомегаловируса определяется путем сравнения ОП образца с ОП Cut-off контроля (пороговое значение).

Образцы с ОП ниже ОП Cut-off контроля признают не реактивными (не содержащими антитела класса *IgM* против ЦМВ).

Образцы с ОП выше ОП Cut-off контроля признают реактивными (содержащими антитела класса *IgM* против ЦМВ).

Область значений ОП ± 10% от ОП Cut-off контроля является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти

пределы, требуется повторное тестирование для подтверждения.

Интерпретация результатов

Результат определяется как отношение ОП образца к ОП Cut-off контроля. Эта величина называется индексом.

$$\text{Индекс} = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОП Cut-off контроля}}$$

Образцы с Индексом < 0,9 признают отрицательными по содержанию антител класса *IgM* против ЦМВ.

Образцы с Индексом > 1,1 признают положительными по содержанию антител класса IgM против ЦМВ.

Образцы с Индексом 0,9 – 1,1 (ОП ± 10% от Cut-off контроля) считаются сомнительными и требуют повторного тестирования.

Характеристики анализа

Диагностическая специфичность составляет 100%.

Диагностическая чувствительность составляет 93,4%.

Кат. № 200-07 ЦМВ IgG

Набор реагентов для качественного и/или количественного иммуноферментного определения антител класса *IgG* против цитомегаловируса в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на иммуноферментном твердофазном анализе, для ферментного конъюгата используется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации антитела класса *IgG* против ЦМВ (если они есть в образце) связываются с ЦМВ, адсорбированном на твердой фазе (в лунках планшета). С помощью промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение следующей инкубации антитела против *IgG* человека, меченые пероксидазой хрена, взаимодействуют с комплексом антиген цитомегаловируса–антитело. После цикла промывок в лунки добавляется раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента.

Реакция останавливается добавлением стоп-реагента (HCl). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Содержание антител класса IgG в образцах и калибраторах прямо пропорционально интенсивности окраски раствора.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 лунок или на 192.

Хранить при температуре 2-8°С.

Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.

Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MTP): лунки стрипов планшета покрыты очищенным и инактивированным антигеном ЦМВ. Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Калибраторы (CAL): раствор на основе сыворотки крови содержит *IgG* против ЦМВ в следующих концентрациях: 10, 30, 60, 120 и 240 РЕ/мл. Готовы к использованию. Растворы калибраторов 30, 60, 120, 240 РЕ/мл красного цвета, раствор калибратора 10 РЕ/мл – голубого. Калибраторы аттестованы по Международному Стандарту, предложенному ВОЗ (pIS), 1995.

(1РЕ анти-ЦМВ *IgG* = 0.141 МЕ).

Конъюгат (CONJ): мышиные моноклональные антитела против *IgG* человека, коньюгированные с пероксидазой хрена (HRPO) на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): Фосфатный буферный раствор. Перед использованием разведите необходимое количество 1:20 дистиллированной водой. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения 20x(DIL): Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Непосредственно перед применением разведите в соотношении 1:20 подготовленным к использованию промывочным раствором. Приготовленный раствор для разведения

хранить 30 дней при 2-8°С.

Отрицательный контроль (NEG): раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgG* к ЦМВ. Готов к использованию. Может использоваться как:

1) Отрицательный контроль в качественном анализе

2) Калибратор с концентрацией 0 МЕ/мл в количественном анализе.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем и DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент (STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA)

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов: 1:300

Лунки / Реагенты	Blank	Отрицательный контроль, Калибратор	Образцы
Отрицательный контроль NEG Калибраторы CAL	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.			
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.			
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: вариант А: 37±2°С, 10 минут; вариант В: комнатная температура, 15 минут.'			
Стоп-реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считывание: 450-405 nm.

Таблица 16

Учет результатов

Качественный анализ

Следует определить оптическую плотность (ОП) отрицательного контроля и калибратора Cut-off (10 РЕ/мл: пороговое значение).

Присутствие или отсутствие антител класса *IgG* против ЦМВ определяется путем сравнения ОП образца с ОП калибратора Cut-off.
Образцы с ОП ниже ОП 10 РЕ/мл калибратора Cut-off признают не реактивными (не содержащими антитела класса *IgG* против ЦМВ).
Образцы с ОП выше ОП калибратора Cut-off признают реактивными (содержащими антитела класса *IgG* против ЦМВ).
Область значений ОП ± 10% от ОП калибратора Cut-off является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, требуется повторное тестирование для подтверждения.
Количественный анализ
Отрицательный контроль является первой точкой калибровочной кривой (0 РЕ/мл антител класса *IgG* против ЦМВ).
Калибровочная кривая строится в линейных координатах, где по оси X откладывают концентрацию каждого калибратора, а по оси У – ОП каждого калибратора. Соответствующие концентрации исследуемых образцов (РЕ/мл) получаются путем интерполяции ОП образца на калибровочной кривой.
Образцы с концентрацией *IgG* антител менее 10 РЕ/мл признают не реактивными.
Образцы с концентрацией *IgG* антител более 30 РЕ/мл признают реактивными.
Образцы с концентрацией *IgG* антител в диапазоне от 10 до 30 РЕ/мл признают слабо-реактивными.

Интерпретация результатов

Нереактивные образцы признают отрицательными по содержанию антител *IgG* класса против ЦМВ.
Реактивные и сомнительные образцы признают положительными по содержанию антител *IgG* класса против ЦМВ.
Образцы сыворотки крови, последовательно полученные от одного пациента, должны сравниваться только при исследовании в одном и том же анализе. В этом случае 60% увеличение ОП во втором образце является значимым признаком недавней или развивающейся инфекции. В этом случае образцы тестируются на присутствие специфических *IgM*.

Характеристики анализа

Диагностическая специфичность составляет 97,5%.
Диагностическая чувствительность составляет 98,7%.
Аналитическая чувствительность
Аналитическая чувствительность может выражаться минимальным количеством определяемого аналита, выявляемым данным набором. Предел детекции составляет 0,7 РЕ/мл (99% доверительный интервал).

Кат. № 200-09 ЦМВ IgG-авидность

Набор реагентов для иммуноферментного определения авидности антител класса *IgG* против цитомегаловируса в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА), в котором сыворотки пациентов, внесенные в лунки микропланшета в дубликатах, реагируют с антигеном CMV, иммобилизованным на внутренней поверхности лунок. После первой инкубации планшет промывают, а парные лунки инкубируют с разными буферными растворами, один из которых содержит мочевину. Мочевина вызывает диссоциацию ранее образовавшегося комплекса антиген-антитело. Степень диссоциации зависит от авидности антител.
После следующего цикла промывки связанные с твердой фазой антитела вступают в реакцию с антителами против *IgG* человека, меченными пероксидазой хрена, которая, в свою очередь, реагирует с раствором ТМБ (Тетраметилбензидин). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Процент авидности вычисляют как отношение между оптическими плотностями в парных лунках.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 лунок, что соответствует 45 определениям.
Хранить при температуре 2-8°С.

Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.
Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент (МТР): Планшет 12 стрипов по 8 лунок: внутренняя поверхность лунок покрыта очищенным и инактивированным антигеном CMV. Оставшиеся неиспользованными стрипы поместить в пластиковый пакет (прилагается) и плотно закрыть; хранить при температуре 2-8°С.

Низкоавидный контроль (CTR BA): 1 флакон. Лиофилизованный препарат красного цвета. Изготовлен на основе сыворотки крови, содержит низкоавидные *IgG* человека к CMV. Перед использованием восстановите содержимое флакона в 2 мл деионизованной воды. Восстановленный реагент хранить в течение 2 месяцев при температуре 2-8°С. Для длительного хранения заморозить при температуре -20°С.

Высокоавидный контроль (CTR AA): 1 флакон. Лиофилизованый препарат синего цвета. Изготовлен на основе сыворотки крови, содержащий высокоавидные человеческие *IgG* против ЦМВ. Перед использованием восстановите содержимое флакона в 2 мл деионизованной воды. Восстановленный реагент хранить в течение 2 месяцев при температуре 2-8°С. Для длительного хранения заморозить до -20°С.

Реагент для диссоциации (DISS): 1 флакон. Содержит буферный раствор с мочевиной. Готов к использованию.

Конъюгат (CONJ): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержит мышиные моноклональные антитела против *IgG* человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRPO). Готов к использованию.

Промывочный раствор 20х (WASH): 1 флакон. Содержит фосфатный буферный раствор и Твин 20. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата в соотношении 1:20 дистиллированной водой. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения образцов 20х (DIL): флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Жидкость красного

цвета. Перед использованием разведите концентрат в соотношении 1:20 предварительно разведенным промывочным раствором. Приготовленный раствор для разведения хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем и DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп реагент (STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.

Пленка для заклеивания планшета (СРА)

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов: 1:300

Лунки / Реагент	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1	H1
Низкоавидный контроль CTR BA	----	----	100 мкл	100 мкл	----	----	----	----
Высокоавидный контроль CTR AA	----	----	----	----	100 мкл	100 мкл	----	----
Образец	----	----	----	----	----	----	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин Промывка: 4 х 350 мкл								
Раствор для разведения образцов DIL	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----
Реагент для диссоциации DISS	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл	----	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.								
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.								
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 10 мин.								
Стоп реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл

Считывание при длине волны 450-405 нм.

Таблица 17

Учет результатов

Вычтите среднее значение оптической плотности (ОП) лунок А1,

В1 из значений ОП других лунок.
Убедитесь, что ОП каждого образца, инкубированного с Раствором для разведения образцов > 0,300. Если это так, можно выполнять расчеты. Если ОП образца < 0,300, это свидетельствует, что образец не содержит достаточную концентрацию антител для определения авидности *IgG* (пациент либо не имеет иммунитета к цитомегаловирусной инфекции, либо находится в периоде, когда иммунный ответ еще не сформирован).
Для каждого образца и контроля рассчитайте процентное отношение ОП лунки, инкубированной с Реагентом для диссоциации и ОП лунки, инкубированной с Раствором для разведения.

ОП с Реагентом для диссоциации
---------- x 100 = % Авидности
ОП с Раствором для разведения

Если ОП образца при длине волны 450 нм >3,000 в любой из лунок, следует измерить ОП повторно при длине волны 405 нм. Процент авидности рассчитывается по формуле (см выше) на основании ОП при 405 нм.

Интерпретация результатов

% авидности > 45% =	IgG против цитомегаловируса с высокой авидностью
% авидности 35-45% =	IgG против цитомегаловируса со средней авидностью (т.н. «серая зона»)
% авидности < 35% =	IgG против цитомегаловируса с низкой авидностью

Таблица 18

Характеристики анализа
Диагностическая специфичность составляет 97,4%.
Диагностическая чувствительность составляет 93,9%.

Кат. № 200-12 ВПГ 1/2 IgM

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса *IgM* против вируса простого герпеса в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа
Принцип работы данного набора основан на твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА). В качестве ферментной метки в наборе применяется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации антитела класса *IgM* против ВПГ (если они есть в образце) связываются с антигеном ВПГ, адсорбированном на твердой фазе (в лунках планшета). С помощью промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение следующей инкубации антитела против *IgM* человека, меченые пероксидазой хрена, взаимодействуют с комплексом ВПГ антиген – антитело. После цикла промывки в лунки добавляется раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента. Реакция останавливается добавлением Стоп-реагента (HCl) интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Содержание антител класса *IgM* в контролях и образцах прямо пропорционально измеренной интенсивности окраски раствора.

Реагенты
Количество реагентов рассчитано на 96 лунок.
Хранить при температуре 2-8°С.
Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.
Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (МТР): лунки стрипов планшета покрыты очищенным и инактивированным антигеном ВПГ. Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Положительный контроль (POS): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgM* к ВПГ. Готов к использованию.

Cut-off контроль (C/O): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgM* к ВПГ. Готов к использованию.

Конъюгат (CONJ): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержит мышиные моноклональные антитела против IgM человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRP). Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): 1 флакон. Фосфатный буферный раствор, содержащий Твин 20. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата дистиллированной водой в соотношении 1:20. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения 20x (DIL): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Непосредственно перед употреблением разведите в соотношении 1:20 подготовленным к использованию промывочным раствором. Приготовленный раствор для разведения хранить 30 дней при 2-8°С.

Отрицательный контроль (NEG): 1 флакон. Раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgM* к ВПГ. Готов к использованию.

Раствор TMB (ТМБ): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент (STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA).

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов: 1:300

Лунки / Реагенты	Blank	Контроли	Образцы
Отрицательный, положительный и cut-off контроль NEG POS C/O	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 3 х 350 мкл.			
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин. Промывка: 3 х 350 мкл.			
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: вариант А: 37±2°С, 10 мин; вариант В: комнатная температура, 15 мин.			
Стоп-реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Считывание: 450-405 nm.			

Таблица 19

Учет результатов

Следует определить оптическую плотность (ОП) отрицательного контроля, положительного контроля и cut-off контроля (пороговое значение). Присутствие или отсутствие антител класса *IgM* против ВПГ определяется путем сравнения ОП образца с ОП Cut-off контроля.

Образцы с ОП ниже ОП Cut-off контроля признают не реактивными (не содержащими антитела класса *IgM* против ВПГ).

Образцы с ОП выше ОП Cut-off контроля признают реактивными (содержащими антитела класса *IgM* против ВПГ).

Область значений ОП ± 10% от ОП Cut-off контроля является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, требуется повторное тестирование для подтверждения.

Интерпретация результатов

Результат определяется как отношение ОП образца к ОП Cut-off контроля. Эта величина называется индексом.

$$\text{Индекс} = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОП Cut-off контроля}}$$

Образцы с Индексом < 0,9 признают отрицательными по содержанию антител *IgM* класса против ВПГ.

Образцы с Индексом >1,1 признают положительными по содержанию антител *IgM* класса против ВПГ.

Образцы с Индексом 0,9 – 1,1 (ОП ± 10% от Cut-off контроля) считаются сомнительными и требуют повторного тестирования.

Характеристика анализа

Диагностическая специфичность составляет 100%.

Диагностическая чувствительность составляет 100%.

Кат. № 200-10 ВПГ 1 IgG

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса *IgG* против вируса простого герпеса 1 типа в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на твердофазном имму-

ноферментном анализе (ИФА). В качестве ферментной метки в наборе применяется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации антитела класса *IgG* против ВПГ 1 типа (если они есть в образце) связываются с антигеном ВПГ 1 типа, адсорбированном на твердой фазе (в лунках планшета). Посредством промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение следующей инкубации антитела против *IgG* человека, меченные пероксидазой хрена, взаимодействуют с комплексом антиген ВПГ 1 типа – антитело. После цикла промывок в лунки добавляется раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента. Реакция останавливается добавлением Стоп-реагента (HCl). Интенсивность окраски, измеренной на спектрофотометре при 450 и 405 нм, будет, таким образом, прямо пропорциональна концентрации антител класса *IgG* против вируса простого герпеса 1 типа в контролях и образцах.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 или на 192 лунки.
Хранить при температуре 2-8°С.
Срок годности реагентов указан на этикетках флаконов.
Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MTP): лунки стрипов планшета покрыты очищенным и инактивированным антигеном ВПГ 1 типа. Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Положительный контроль (POS): раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgG* к ВПГ 1 типа. Готов к использованию.

Cut-off контроль (C/O): раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgG* к ВПГ 1 типа. Готов к использованию.

Конъюгат (CONJ): Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами, содержащий мышиные моноклональные антитела против *IgG* человека, коньюгированные с пероксидазой хрена (HRPO).. Готов к использованию.

Промывочный раствор 20x (WASH): Фосфатный буферный раствор, содержащий Твин 20. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата дистиллированной водой в соотношении 1:20. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения 20x (DIL): Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Непосредственно перед применением растворяется в отношении 1:20 подготовленным к использованию промывочным раствором . Приготовленный раствор для разведения хранить 30 дней при 2-8°С.

Отрицательный контроль (NEG): раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgG* к ВПГ 1 типа. Готов к использованию. Раствор красного цвета.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент(STOP): 1 флакон. 1Н HCl. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA).

Пластиковый пакет с замком.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов: 1:300

Лунки / Реагенты	Blank	Контроли	Образцы
Отрицательный, положительный и cut-off контроли NEG POS C/O	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.			
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин Промывка: 4 х 350 мкл.			
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: вариант А: 37±2°С, 10 мин; вариант В: комнатная температура, 15 мин			
Стоп-реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Считывание: 450-405 nm			

Таблица 20

Учет результатов

Следует определить оптическую плотность (ОП) отрицательного контроля, положительного контроля и cut-off контроля (пороговое значение). Присутствие или отсутствие антител класса *IgG* против ВПГ 1 типа определяется путем сравнения ОП образца с ОП Cut-off контроля.

Образцы с ОП ниже ОП Cut-off признают не реактивными (не содержащими антитела класса *IgG* против ВПГ 1 типа).

Образцы с ОП выше ОП Cut-off признают реактивными (содержащими антитела класса *IgG* против ВПГ 1 типа).

Область значений ОП ± 10% от ОП калибратора является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, результат считается сомнительным и требуется повторное тестирование для подтверждения.

Интерпретация результатов

Результат определяется как отношение ОП образца к ОП Cut-off контроля. Эта величина называется индексом.

$$\text{Индекс} = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОП Cut-off контроля}}$$

Образцы с Индексом < 0,9 признают отрицательными по содержанию антител *IgG* класса против ВПГ 1 типа.

Образцы с Индексом >1,1 признают положительными по содержанию антител *IgG* класса против ВПГ 1 типа.

Образцы с Индексом 0,9 – 1,1 (ОП ± 10% от Cut-off контроля) считаются сомнительными и требуют повторного тестирования.

Образцы сыворотки крови, последовательно полученные от одного пациента, должны сравниваться только при исследовании в одном и том же анализе. В этом случае 60% увеличение ОП во втором образце является значимым признаком недавней или развивающейся инфекции. В этом случае образцы тестируются на присутствие специфических *IgM*.

Характеристика анализа

Диагностическая специфичность составляет 100%.

Диагностическая чувствительность составляет 97,6%.

Кат. № 200-11 ВПГ 2 IgG

Набор реагентов для качественного иммуноферментного определения антител класса *IgG* против вируса простого герпеса 2 типа в сыворотке и плазме крови человека

Принцип анализа

Принцип работы данного набора основан на иммуноферментном твердофазном анализе. В качестве ферментной метки в наборе применяется пероксидаза хрена. В течение первой инкубации антитела класса *IgG* против ВПГ 2 типа (если они есть в образце) связываются с антигеном ВПГ 2 типа (гликопротеин gG2), адсорбированном на твердой фазе (в лунках планшета). Посредством промывки удаляется несвязавшийся материал. В течение следующей инкубации антитела против *IgG* человека, меченные пероксидазой хрена, взаимодействуют с комплексом антиген ВПГ 2 типа – антитело. После цикла промывки в лунки добавляется раствор ТМБ, что приводит к развитию окраски под воздействием фермента. Реакция останавливается добавлением стоп-реагента (HCl). Интенсивность окрашивания раствора измеряется на спектрофотометре при длине волны 450 нм или 405 нм. Содержание антител класса *IgG* в контролях и образцах прямо пропорционально измеренной интенсивности окраски раствора.

Реагенты

Количество реагентов рассчитано на 96 или на 192 лунки.

Хранить при температуре 2-8°С.

Срок годности реагентов указан на этикетке флаконов.

Вскрытые реагенты стабильны при температуре 2-8°С в течение 2 месяцев.

Иммуносорбент – планшет (MTP): лунки стрипов планшета покрыты специфическим гликопротеином gG2 (антиген ВПГ 2 типа). Неиспользованные стрипы хранить при температуре 2-8°С в плотно закрытом пластиковом пакете (прилагается).

Положительный контроль (POS): раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgG* к ВПГ 2 типа. Готов к использованию.

Cut-off контроль (C/O): раствор на основе сыворотки крови, содержит антитела класса *IgG* к ВПГ 2 типа. Готов к использованию.
Конъюгат (CONJ): мышиные моноклональные антитела против *IgG* человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRPO) на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Готов к использованию.

Промывочный раствор 20х (WASH): Фосфатный буферный раствор, содержащий Твин 20. Перед использованием разведите необходимое количество концентрата дистиллированной водой в соотношении 1:20. Приготовленный промывочный раствор хранить 30 дней при 2-8°С.

Раствор для разведения 20х (DIL): Раствор на основе сыворотки крови со стабилизаторами. Непосредственно пред употреблением разведите в отношении 1:20 подготовленным к использованию промывочным раствором. Приготовленный раствор для разведения хранить 30 дней при 2-8°С.

Отрицательный контроль (NEG): раствор на основе сыворотки крови, не содержит антител класса *IgG* к ВПГ 2 типа. Готов к использованию.

Раствор ТМБ (TMB): 1 флакон. Раствор тетраметилбензидина в цитратно-фосфатном буфере, содержащем и DMSO и H_2O_2. Готов к использованию.

Стоп-реагент(STOP): 1 флакон. 1НHCL. Готов к использованию.

Бумага для заклеивания планшета (CPA).

Пластиковый пакет.

Схема анализа

Предварительное разведение образцов*:* 1:300

Лунки / Реагенты	Blank	Контроли	Образцы
Отрицательный, положительный и cut-off контроли NEG POS C/O	-----	100 мкл	-----
Образцы	-----	-----	100 мкл
Раствор для разведения DIL	100 мкл	-----	-----
Инкубация: 37±2°С, 60±5 мин. Промывка: 4 х 350 мкл.			
Конъюгат CONJ	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: 37±2°С, 30±2 мин Промывка: 4 х 350 мкл.			
Раствор ТМБ TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Инкубация: вариант А: 37±2°С, 10 мин; вариант В: комнатная температура, 15 мин			
Стоп-реагент STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Считывание: 450-405 nm.			

Таблица 21

Учет результатов

Следует определить оптическую плотность (ОП) отрицательного контроля, положительного контроля и cut-off контроля (пороговое значение). Присутствие или отсутствие антител класса *IgG* против ВПГ 2 типа определяется путем сравнения ОП образца с ОП Cut-off контроля.

Образцы с ОП ниже ОП Cut-off признают не реактивными (не содержащими антитела класса *IgG* против ВПГ 2 типа).

Образцы с ОП выше ОП Cut-off признают реактивными (содержащими антитела класса *IgG* против ВПГ 2 типа).

Область значений ОП ± 10% от ОП калибратора является областью сомнительных значений. Если ОП образца попадает в эти пределы, результат считается сомнительным и требуется повторное тестирование для подтверждения.

Интерпретация результатов

Результат определяется как отношение ОП образца к ОП Cut-off контроля. Эта величина называется индексом.

$$\text{Индекс} = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОП Cut-off контроля}}$$

Образцы с Индексом < 0,9 признают отрицательными по содержанию антител *IgG* класса против ВПГ 2 типа.

Образцы с Индексом > 1,1 признают положительными по содержанию антител *IgG* класса против ВПГ 2 типа.

Образцы с Индексом 0,9 – 1,1 (ОП ± 10% от Cut-off контроля) считаются сомнительными и требуют повторного тестирования.

Образцы сыворотки крови, последовательно полученные от одного пациента, должны сравниваться только при исследовании в одном и том же анализе. В этом случае 60% увеличение ОП во втором образце является значимым признаком недавней или развивающейся инфекции. В этом случае образцы тестируются на присутствие специфических *IgM*.

Характеристики анализа

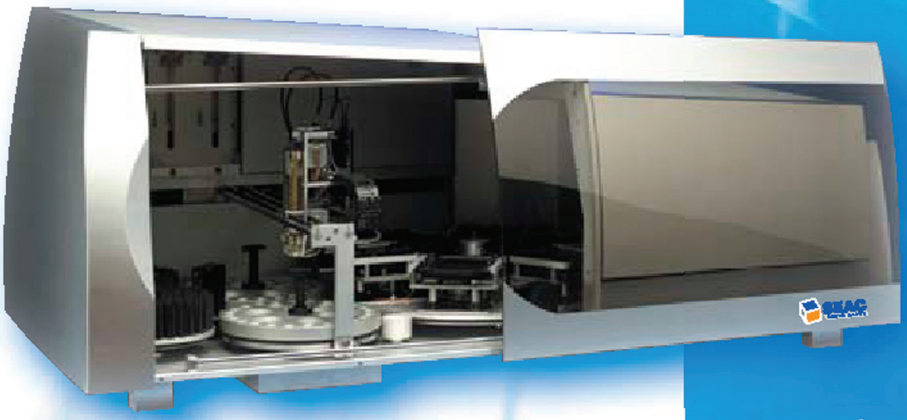
Диагностическая специфичность составляет 99,4%.

Диагностическая чувствительность составляет 97,9%.

Alisei

Алкор Био

Современный автоматический анализатор для проведения всех типов иммуноферментных тестов.



Открытая система, предназначена как для крупных лабораторий, так и для лабораторий со средним потоком исследований.

Оптимизирует работу Вашей лаборатории

- Избавит Вас от рутинных методик
- Гарантирует получение быстрого, надежного и качественного результата

Основные характеристики:

- Выполняет от 1 до 540 определений за одну постановку (снабжен 6 планшетами).
- Осуществляет одновременно до 12 видов исследований, в аллергодиагностике – до 110 аллергенов.
- Позволяет совместить до 4 видов исследований на одном планшете.
- Проводит исследования в монопликатах и по сокращенной калибровочной кривой.
- Обладает современным русифицированным программным обеспечением, которое позволяет обрабатывать конечные результаты, а также получать данные о пациентах и проводимых анализах из компьютерной сети лаборатории.

Использует наборы реагентов любых производителей, как российских, так и зарубежных.

Рассчитан на максимально широкий диапазон исследований:

- гормоны щитовидной железы
- половые гормоны
- онкомаркеры
- инфекционные заболевания (гепатиты, ВИЧ, ToRCH и т.д.)
- аллергия
- диагностика функций надпочечников
- диагностика репродуктивной функции
- пренатальная диагностика
- диагностика функций щитовидной железы
- неонатальный скрининг
- онкомаркеры
- диагностика анемии
- диагностика ToRCH-инфекций
- диагностика хламидиозов
- аллергодиагностика
- програмный комплекс «Пренатальный скрининг Синдрома Дауна»
- программа «ИФА-мастер»

ООО «Алкор Био» 197110 С-Петербург, а/я 243
телефон: (812) 596 67 76, 596 67 79, 596 67 81, телефон/факс: (812) 596 67 80
alkorbio@peterlink.ru, http://www.alkorbio.ru