



INNOVATIVE CLINICAL DIAGNOSTIC SYSTEMS

Возможности современной лаборатории при исследовании маркеров аутоиммунных и инфекционных процессов

Ивашкина Светлана Георгиевна,

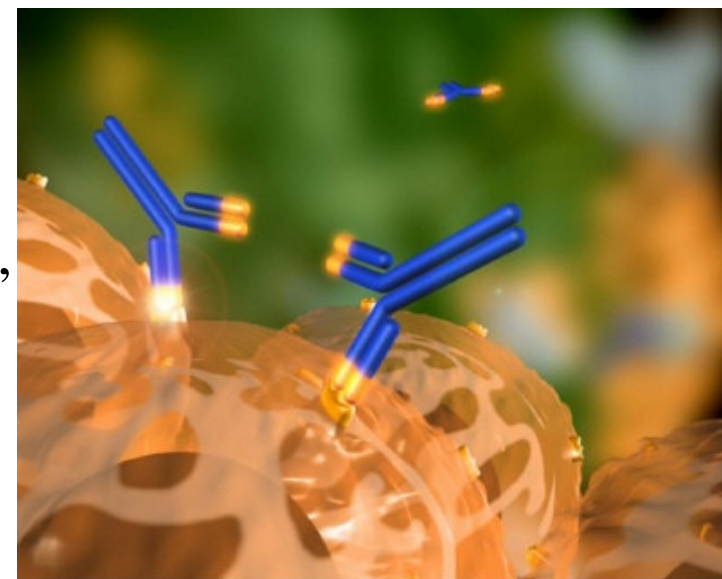
кандидат медицинских наук





Реализация аутоиммунитета

- **Аутоиммунная реакция**
 - Нормальная функция здорового организма, происходят непрерывно
 - Направлена на устранение отмирающих, стареющих, больных клеток
 - Маркер патологии
- **Аутоиммунный процесс** – хроническое воспаление, приводящее в долговременному повреждению тканей. Постоянно поддерживается тканевыми антигенами.
- **Аутоиммунное заболевание**
 - Более 80 видов
 - Частота в мире 5 %

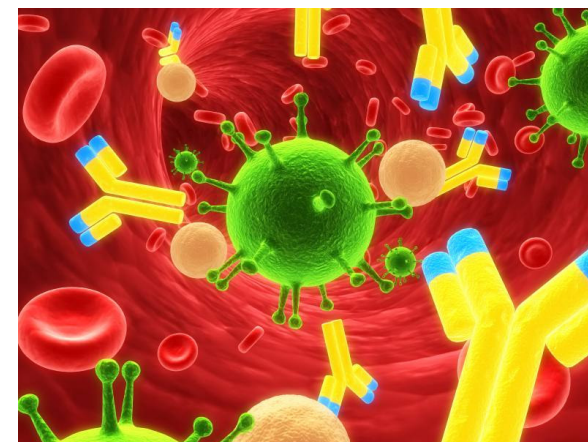




Аутоиммунные заболевания

Органоспецифичная форма (моноорганные процессы)

- Аутоиммунный тиреоидит
- Аутоиммунный гепатит
- Аутоиммунный гломерулонефрит
- Идиопатический легочный фиброз
- Первичный билиарный цирроз
- Симпатическая офтальмия
- Синдром Гудпасчера
- Сахарный диабет инсулинозависимый 1 типа и др.





BIESSE
BIESSE

INNOVATIVE CLINICAL DIAGNOSTIC SYSTEMS



Аутоиммунные заболевания

Системные заболевания соединительной ткани

- Разнообразная клиническая симптоматика (кожа и внутренние органы)
- Единый иммунопатогенез
- Иммунный ответ на компоненты ядра и цитоплазмы
- Иммунологическое обследование входит в критерии диагностики



Аутоиммунные заболевания

Системные заболевания соединительной ткани

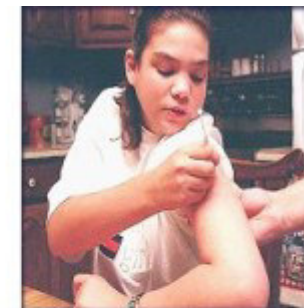
- системная красная волчанка;
- системная склеродермия;
- диффузный фасциит;
- дерматомиозит (полимиозит)

идиопатический;

- болезнь (синдром) Шегрена;
- синдром Шарпа;
- ревматическая полимиалгия;
- рецидивирующий полихондрит;
- рецидивирующий панникулит (болезнь Вебера—

Крисчена).

- болезнь Бехчета,
- первичный антифосфолипидный синдром,
- системные васкулиты.





Частота выявления специфических антител при системных заболеваниях соединительной ткани

Заболевание	Ss-DNA	Ds-DNA	RN P	SM	SS-A	SS-B	Anti CCP	Anti Scl 70	РФ
СКВ активная	78	89	95	35	33	45	0	13	15
СКВ неактивная	43	50	25	0	15	10	0	25	18
СКВ с почечным синдромом	68	56	90	0	25	15	0	25	14
С.склеродермия	50	0	0	0	60	25	0	85	11
С. Шегрена	38	0	63	0	60	45	0	11	80
РА	35	0	25	10	10	0	95	8	85
Здоровые	10	0	0	0	0	0	0	0	6



Лабораторные критерии диагностики ревматоидного артрита

- РФ, anti-CCP/CPRA, СОЭ*
- Антиперинуклеарные (антикератиновые) АТ →
эпитоп, содержащий одну из форм аргинина –цитруллин
- RA/CP-Detect (Chorus) – новейший
высококчувствительный и высокоспецифичный тест на
основе специфических синтетических
цитруллинированных пептидов человеческого IgG

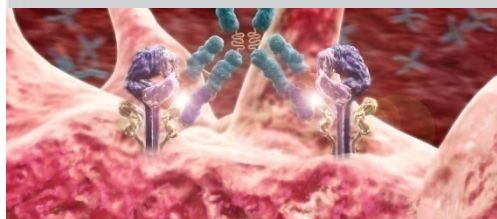
* *Daniel Aletaha et. al. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria
An American College of Rheumatology/European League Against
Rheumatism Collaborative Initiative*

ARTHRITIS & RHEUMATISM Vol. 62, No. 9, September 2010, pp 2569–2581

Критерии диагностики антифосфолипидного синдрома

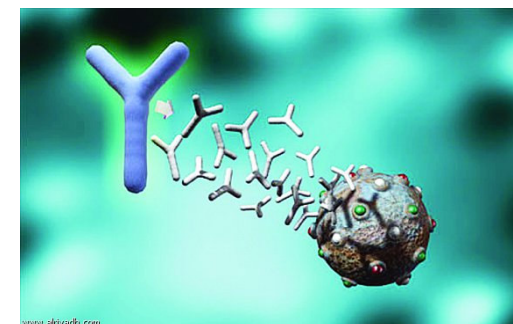
- Полиорганность клинической симптоматики (сложности при постановке диагноза).
- Венозные и/или артериальные тромбозы, различные формы акушерской патологии, тромбоцитопения, неврологические, кожные, сердечно-сосудистые нарушения
- Повышенные уровни
 - волчаночного антикоагулянта,
 - антикардиолипидных аутоантител, определенных, как минимум, дважды с интервалом не менее 12 недель и не более 5 лет
 - аутоантител к β 2-гликопротеину-I классов IgG и IgM.
- *Сиднейские критерии 2006 года*





Аутоиммунный компонент

- Может сопровождать соматические и инфекционные процессы, беременность
- Может перерасти в аутоиммунный процесс или аутоиммунное заболевание
- Инфекционный или воспалительный процесс может являться триггером, запускающим аутоиммунный процесс
- Может проявляться на начальных этапах только в виде лабораторных маркеров аутоиммунной реакции



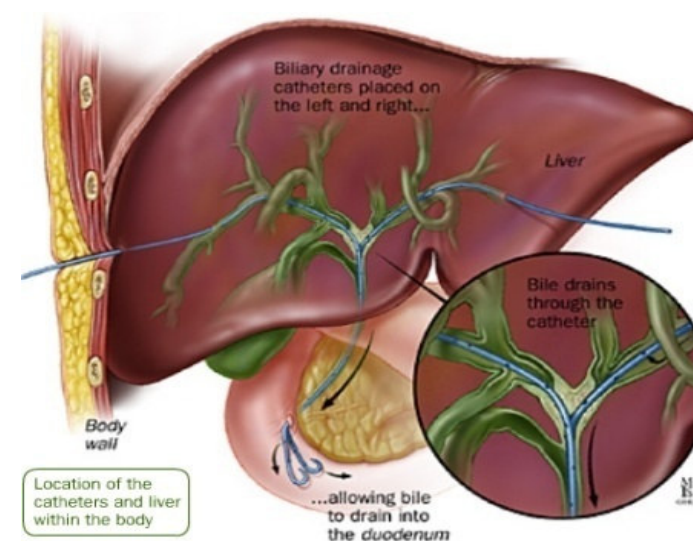


Аутоиммунный компонент при физиологических состояниях (беременность)

- Антифосфолипидный синдром (АТ к кардиолипину, $\beta 2$ гликопротеину I)
- Гестоз (ANA, антитела к нативной ДНК (одно и двухцепочечной))
- SS-A (тяжелая врожденная кардиальная патология плода, неонатальный волчаночный синдром)
- Выработка широкого спектра аутоантител

Аутоиммунные заболевания печени

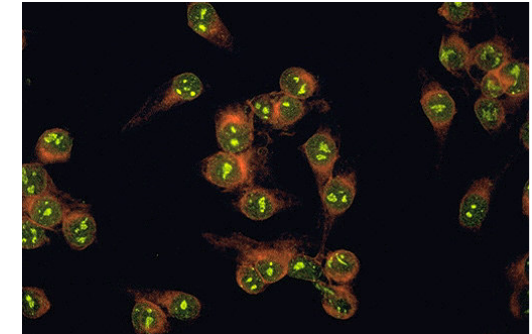
- Первичный билиарный цирроз
(Антимитохондриальные антитела (AMA – M2)
- Аутоиммунный холангит –
антинуклеарные (ANA),
антимитохондриальные
(AMA-M2)
- Аутоиммунный гепатит





Лабораторные критерии диагностики аутоиммунного гепатита

- **Аутоиммунный гепатит**
 - **1 типа** – Антинуклеарные (ANA) (70-80%), антигладкомышечные (SMA), антинейтрофильные аутоантитела (ANCA) (50-70%)
 - **2 типа** – аутоантитела к микросомам печени и почек (LKM-1) (100%)
 - 2a – анти-LKM и антитела к цитозольному антигену печени (LC-1) (70-89%)
 - 2b – LKM-1, анти-ВГС и **РНК ВГС**
 - **3 типа** - аутоантитела к растворимым печеночным антигенам (SLA) (80-100%)





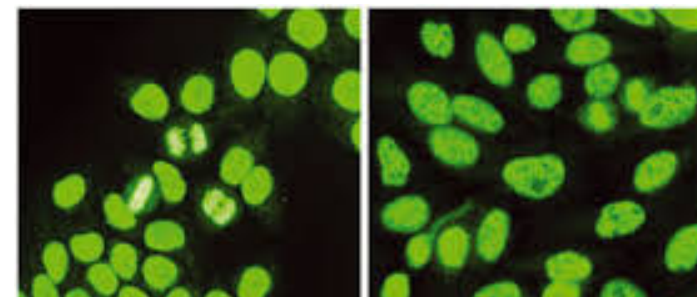
Вирусный гепатит с аутоиммунным компонентом

- **Вирусный гепатит с аутоиммунным компонентом** – Антинуклеарные, Антигладкомышечные, Антитела к ТГ и ТПО, РФ – чаще в невысоких концентрациях
- **АИГ + ВГ:**
 - - у 4% больных АИГ- АТ к ВГС,
 - - у 4% больных - серологические маркеры ВГВ.
 - - у 11% больных с атипичными проявлениями АИГ или слабой реакцией на кортикостероидную терапию в крови определяется РНК ВГС
- **Вакцинация** - антинуклеарные, антифосфолипидные антитела, аутоантитела к митохондриальной фракции щитовидной железы

Терапия:

➤Противовирусная - малоэффективна у пациентов с аутоиммунным компонентом, может усугубить аутоиммунную составляющую

➤Жортикостероидная – неэффективна, может усугубить тяжесть инфекции



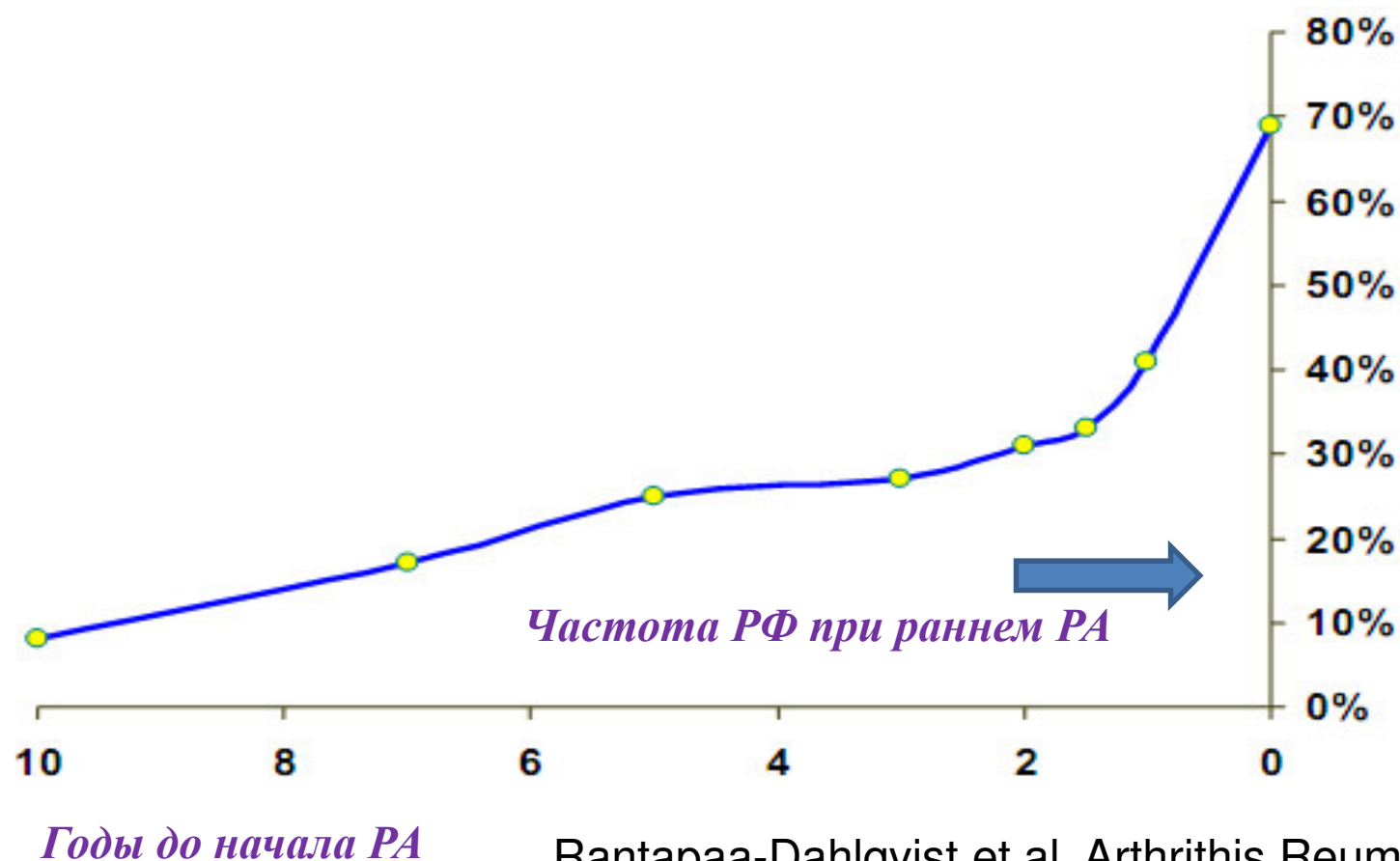


Прогностическая роль аутоантител

- Аутоантитела в крови - предиктор аутоиммунного заболевания
- Могут появляться за годы до появления клинических симптомов
 - РФ и анти-ССР- РА
 - АТ к ДНК и кардиолипину – СКВ и АФЛС
 - Аутоантитела к инсулину, GAD и IA2 – диабет 1 типа
 - АТ к тканевой трансглутаминазе – целиакия
 - И т.д.



Прогностическое значение РФ



Rantapaa-Dahlqvist et al, Arthritis Reum
2003



Инфекции и аутоиммунная реакция

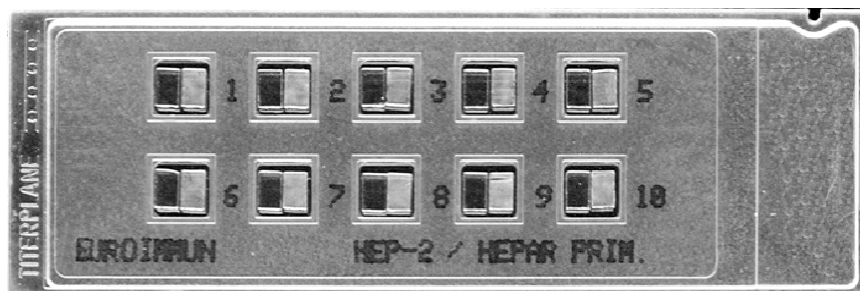
- Вирус Коксаки В4, эпидемического паротита, гепатита А краснуха, ветряная оспа, и т.д.) на фоне генетической предрасположенности - **антитела к бета-клеткам поджелудочной железы. Появляются у больных до клинического развития** сахарного диабета после перенесенных инфекционных заболеваний.
- H. Pylori – **аутоиммунный гастрит** (Parente F. et al., 2001)
- Стрептококковая инфекция – **РА**
- ВЭБ - **аутоиммунные васкулиты, неспецифический язвенный колит, СКВ, РА, синдром Шегрена** (могут развиваться через большой промежуток времени после инфицирования)



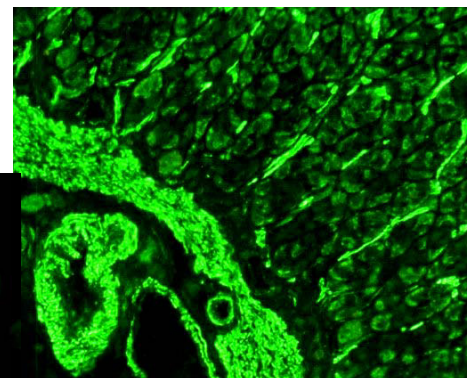
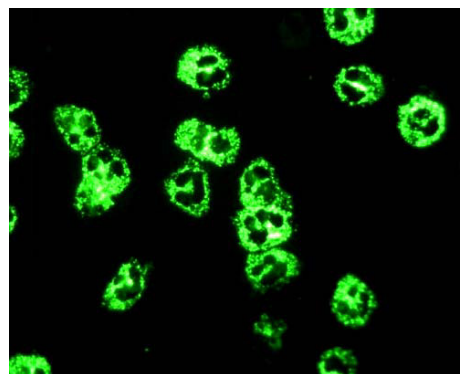
DIESSE
DIESSE

INNOVATIVE CLINICAL DIAGNOSTIC SYSTEMS

Методические возможности выявления антител

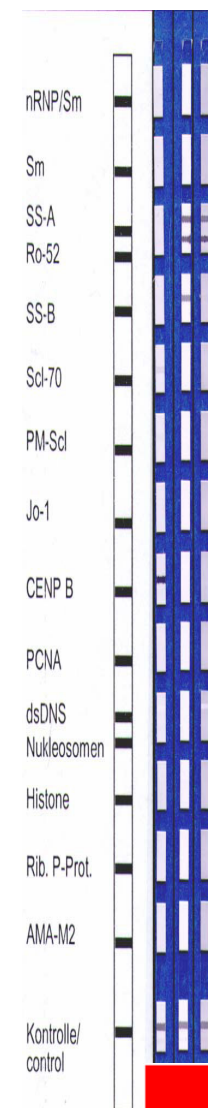


ИРИФ



ИФА

БЛОТ





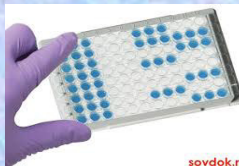
Иммуноферментный анализ

- **Преимущества**

- Простота
- Дешевизна
- Высокая чувствительность и специфичность
- Скорость получения результата

Ручной формат

Возможность влияния субъективного фактора



Для проведения исследования оптимален набор материала на 96-луночный планшет

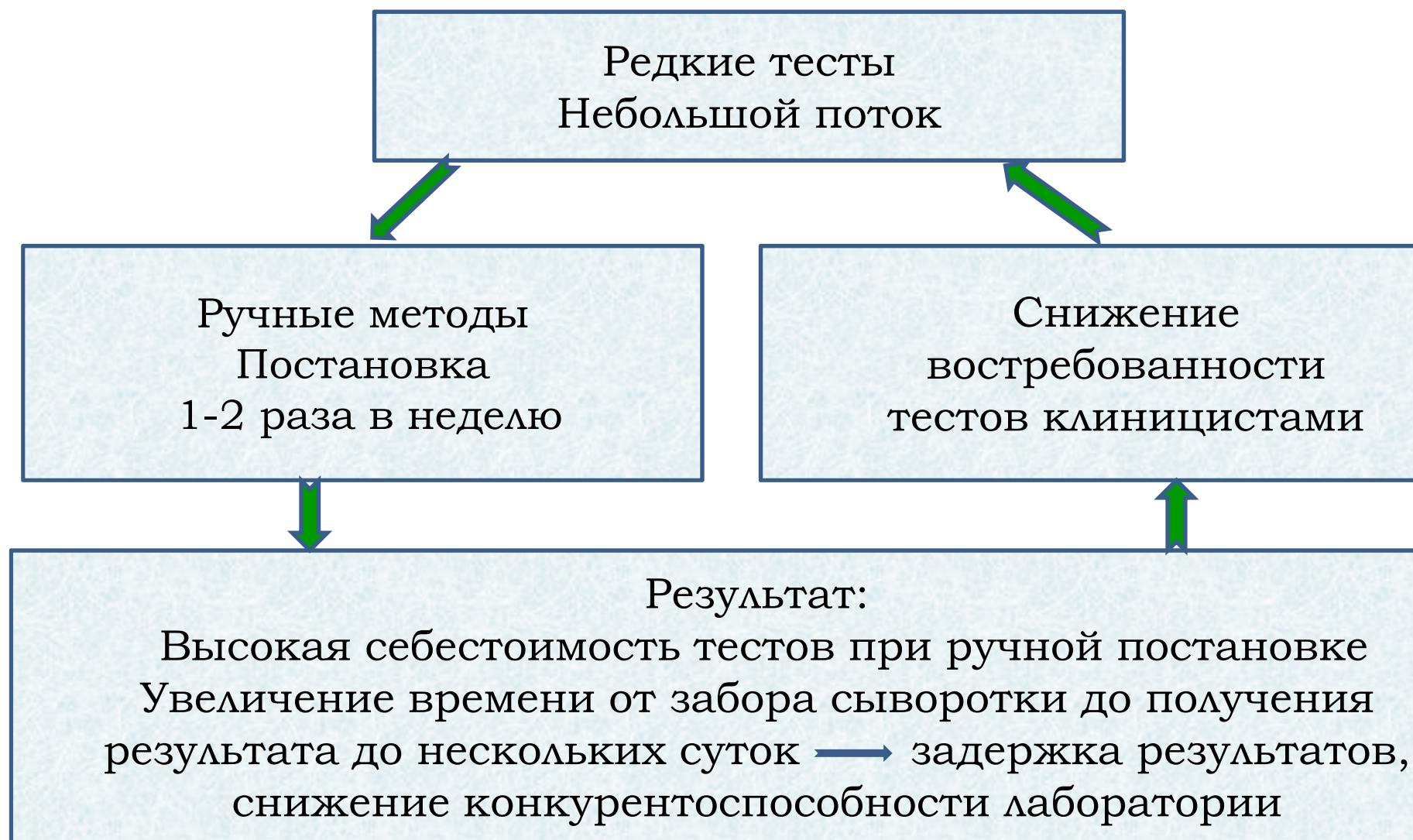
Автоматизированный

Стандартизация результатов, Отсутствие влияния субъективного фактора



Возможность проводить единичные исследования (закрытые системы)

Редкие и сложные тесты – проблемы лаборатории и клиники





Автоматические анализаторы закрытого типа



- ❖ Стабильная аналитическая система (анализатор + реагент) → Высокое качество получаемых результатов
- ❖ Возможность проведения единичных исследований
- ❖ Быстрота получения результатов
- ❖ Различная производительность
- ❖ Различное меню тестов
- ↓
- ❖ Совмещение в одной постановке маркеров различных процессов (инфекционных, аутоиммунных, гормонов, онкомаркеров и т.д.)



Chorus – автоматический анализатор закрытого типа



***Меню тестов более 100
маркеров:***

- инфекционных заболеваний
- аутоиммунных процессов

Методы исследования

– твердофазный ИФА ,
сэндвич или конкурентный в
зависимости от теста

- *тесты фиксации*
комплемента.



PIESSE
PIESSE

INNOVATIVE CLINICAL DIAGNOSTIC SYSTEMS



Меню тестов

Аутоиммунные процессы.

- Ревматология

- ANA-HEP-2
- Anti-dsDNA IgG
- Anti-ANA-8
- Anti-ENA-6 S
- Anti-ANA Screen
- Anti-SS-A
- Anti-SS-B
- Anti-snRNP-c
- Anti-U170
- Anti-Sm
- Anti-Jo-1
- Anti-Scl 70
- Anti-Cenp B
- Anti-CCP
- RF-IgG/IgM

- Печеночный профиль

- Anti-AMA-M2
- Anti-LKM-1
- Anti-LC-1

- АФЛС

- Anti-Cardiolipin IgG
- Anti-Cardiolipin IgM
- Anti- β 2 Glyco IgG
- Anti- β 2 Glyco IgM

- Васкулит

- Anti-MPO
- Anti-PR3 Sensitive
- Anti-GBM

- Антитела к антигенам щитовидной железы

- Anti-a-Tg
- Anti-a-TPO
- Thyroglobulin

- Заболевания желудочно-кишечного тракта

- Anti-tTg IgA
- Anti-tTg IgG
- Anti-Gliadin IgA
- Anti-Gliadin IgG
- Anti-DGP IgG
- Anti-DGP IgA
- Anti-ASCA IgA
- Anti-ASCA IgG

- Диабет

- Anti-Insulin





PIESSE
PIESSE

INNOVATIVE CLINICAL DIAGNOSTIC SYSTEMS

Меню тестов

Инфекционные заболевания (ИФА)

TORCh –комплекс

- Цитомегаловирус IgG/IgM/ **авидность**
- Вирус простого герпеса 1+2 IgG/IgM
- Вирус простого герпеса 1 Screen
- Вирус простого герпеса 2 Screen
- Вирус краснухи IgG/IgM/ **авидность**
- Токсоплазма IgG /IgM/IgA/ **авидность**

Детские инфекции

- Вирус паротита IgM/IgG
- Вирус кори IgM/IgG
- Вирус ветряной оспы IgM/IgG
- Вирус тосканской лихорадки IgM/IgG

- Mycoplasma pneumonia IgG /IgM
- Вирус Эпштейна-Барра EBNA IgG
- Вирус Эпштейна-Барра VCA IgM
- Вирус Эпштейна-Барра VCA IgG
- Вирус Эпштейна-Барра Early Antigen IgM
- Вирус Эпштейна-Барра Early Antigen IgG

• **Заболевания желудка**

- Helicobacter pylori IgA
- Helicobacter pylori IgG

• **Сифилис**

- Treponema IgG
- Treponema IgM
- Сифилис скрининг





Авидность IgG

1) Характеристика прочности связи специфических антител с соответствующими антигенами



3) Индикатор срока первичного инфицирования (Hedman K. M. с соавт., 1989)

2) Риск патологии плода выше при остром первичном инфицировании по сравнению с хронической и реактивацией латентной инфекции

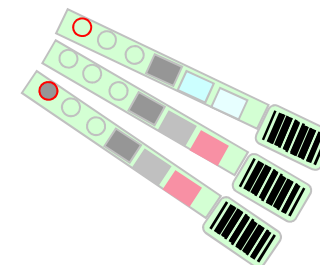
4) Одновременное присутствие в сыворотке IgG и IgM не всегда свидетельство недавнего первичного инфицирования (IgM – более 2 лет), низкоавидные IgG – до 5 мес.



Меню тестов

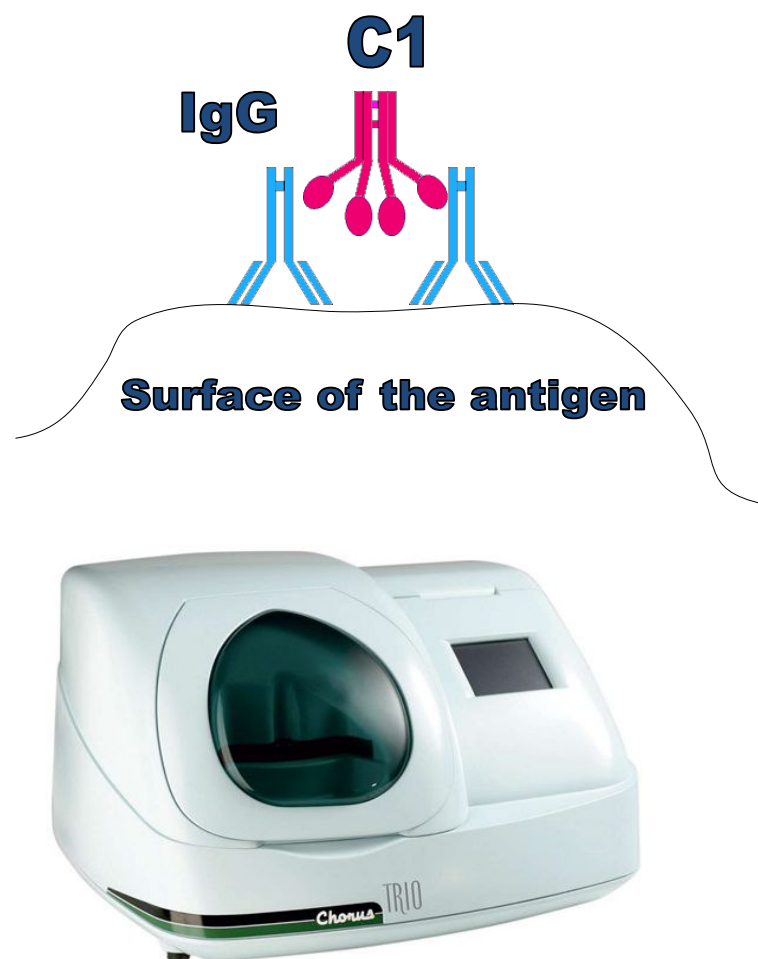
Тесты фиксации комплемента

- Influenza A
- Influenza B
- RSV
- Adenovirus
- Parainfluenza mix
- Q Fever
- Chlamydia
- Mycoplasma pneumoniae
- Legionella pneumophyla
- Listeria monocytogenes
- Echinococcus
- Leptospira
- Brucella
- Campylobacter jejuni
- Shigella flexneri
- Borrelia
- Bordetella pertussis
- Yersinia enterocolitica
- ECHO N/P
- Coxsackie A



- ✓Выявление антител классов IgG1, IgG2, IgG3 и IgM
- ✓Высокие титры комплементфиксирующих антител указывают на недавнюю или текущую инфекцию
- ✓Возможность оценивать динамику антител в процессе лечения.

Тесты фиксации комплемента



Для активации **C1** должен быть связан с **двумя Fc-фрагментами**.

Каждый Fc-фрагмент имеет только один связывающий центр

Поэтому **для активации** каскада комплемента достаточно только **одной молекулы IgM** (IgM пентамер), но - **2 молекул IgG**

Fc-фрагменты IgG должны быть достаточно близко, чтобы связать C1



Тесты фиксации комплемента

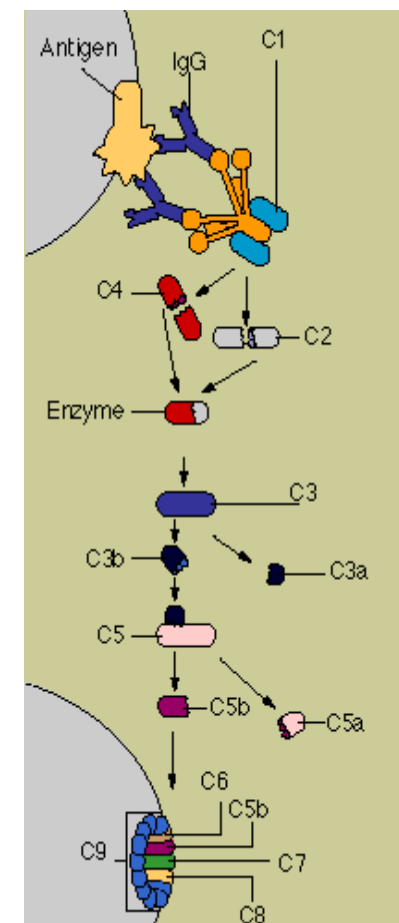
Антитела класса IgM являются гораздо более эффективными, чем IgG

Для активации каскада комплемента необходим достаточно высокий титр IgG

В РСК можно обнаружить:

- **IgM** (которые продуцировались в период первичной инфекции)
- **высокий титр IgG** (продуцировались в период активации повторной инфекции)

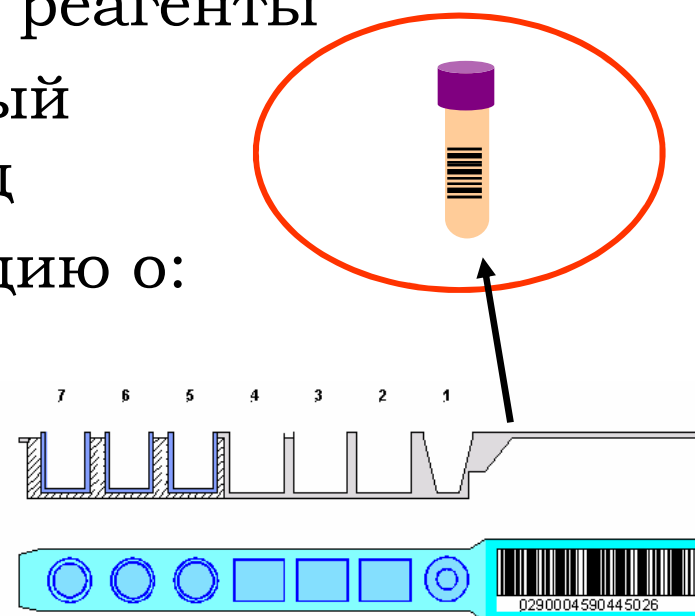
Это хороший тест для диагностики **острой фазы инфекционного заболевания.**





Стриповая технология, единичные тесты

- Одноразовые стрипы, готовые к использованию
- 1 стрип = 1 исследование
- Небольшое количество стрипов в упаковке
- Уже содержит все необходимые реагенты
- Каждый стрип имеет уникальный идентификационный штрих-код
- Штрих-код содержит информацию о:
 - типе теста
 - номере лота
 - сроке годности





Преимущества и возможности лаборатории

- ❖ Качество результатов
- ❖ Возможность выполнения редких тестов без увеличения себестоимости и увеличения срока выдачи результата
- ❖ Отсутствие влияния субъективного фактора
- ❖ Безопасность для реагентов и персонала
- ❖ Экономическая целесообразность
- ❖ Минимальное техническое обслуживание и количество отходов
- ❖ Возможность работы автономно и с подключением ЛИС
- ❖ Расширение списка услуг лаборатории





INNOVATIVE CLINICAL DIAGNOSTIC SYSTEMS

Спасибо за внимание !

sivashkina@cormay.ru

Моб.: +7 (903) 6666-523

