

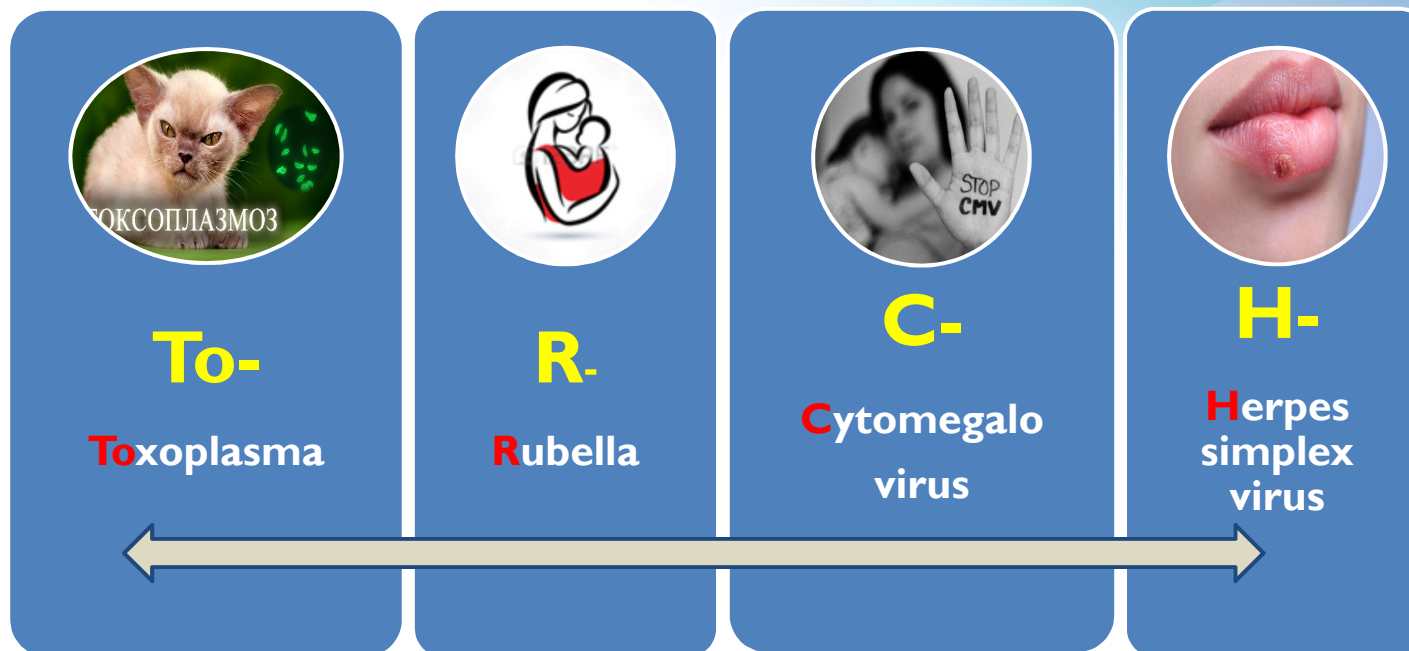
Диагностика ToRCH-инфекций. Способы повышения специфичности тест-систем ЦМВ IgM (ИФА)



Крылова Ольга, руководитель направления
инфекционной диагностики Алкор Био



ToRCH-инфекции



T – Toxoplasma (токсоплазмоз)

O- расшифровка «O» как «others», т.е. «другие» инфекции.

R – Rubella (краснуха)

C – Cytomegalovirus (цитомегалия)

H – Herpes simplex virus (герпес простой 1,2 типов)

Термин предложен в 1971 г. Andre J. Nahmias и используется ВОЗ.

Все эти заболевания могут объединяться термином «внутриутробные инфекции».



Принципы объединения ToRCH-инфекций в группу

**Трансплацентарное заражение
плода при первичной
инфекции, тератогенное
действие на плод**

**Способность к длительной
персистенции в организме без
выраженных клинических
проявлений**

**Сходные клинические
проявления ВУ**

**Сходные принципы
лабораторной диагностики**



АКТУАЛЬНОСТЬ ДИАГНОСТИКИ ТОРСН-ИНФЕКЦИЙ ВО ВСЕМ МИРЕ ОЧЕВИДНА:

Глобальная ежегодная заболеваемость врожденным токсоплазмозом оценивается на уровне 190 100 случаев. Это эквивалентно бремени 1,2 млн. потерянных лет жизни, скорректированных на инвалидность

who.int
[САЙТ ВОЗ](#)

360 миллионов человек в мире страдают от инвалидизирующей потери слуха, из них 32 миллиона детей. Причина потери слуха-ВУИ

По оценкам, во всем мире вирусом ВПГ-1 инфицированы около 3,7 миллиарда человек (67% населения).

Достижения 2015: Регион Америки стал первым регионом, ликвидировавшим краснуху

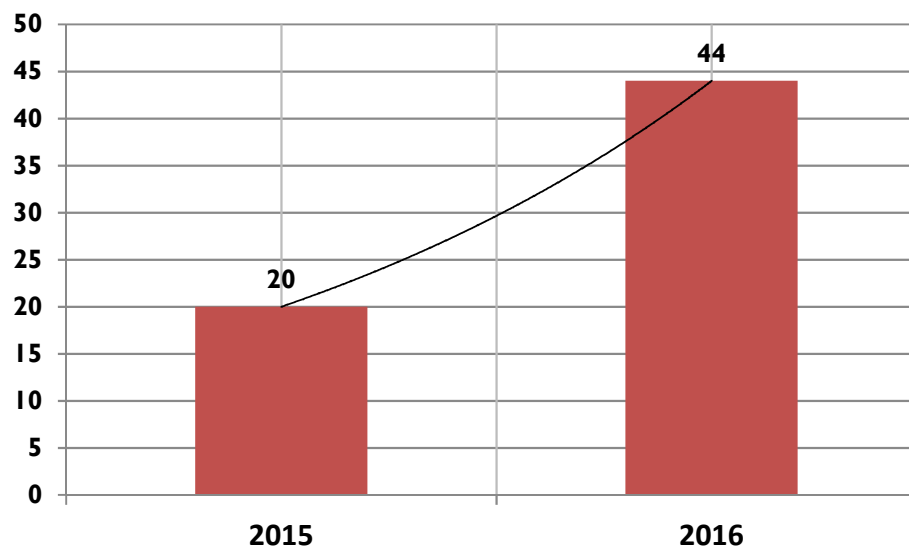
К концу 2020 г. Завершить ликвидацию краснухи, по меньшей мере, в 5 регионах ВОЗ.



АКТУАЛЬНОСТЬ ДИАГНОСТИКИ ToRCH в РФ действительна и поддерживается законодательно:

- Пр. МЗ РФ от 12.11.2012 № 572 н «Порядок оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных, репродуктивных технологий)», Приказ № 808 отменен; № 50 вошел в действующий №572
- Пр. МЗ РФ от 30.08.2012 №107н, Распоряжение Комитета по здравоохранению от 26.01.2015 №9-р (о репродуктивных технологиях).

**Краснуха-
показатели заболеваемости
в РФ
2015-2016 (рост в 2,2 раза)**



РФ-Вступление в действие
Постановления № 102 (и др.
законодательных документов о
преференциях)



Роспотребнадзор опубликовал данные за первые 7 месяцев 2017 года о заболеваемости по ряду инфекционных заболеваний: всего 4 случая краснухи.

«Сегодня мы практически элиминировали корь, - сказал [Геннадий Онищенко](#), указав, что количество заболевших приблизилось к показателю устойчивого достижения элиминации кори и краснухи – менее 1 случая на миллион населения.

Цель государственной программы «Элиминация кори и краснухи в РФ» (2016-2020 годы) - верификация элиминации к 2020 году, что будет достигаться высоким уровнем охвата населения прививками.



МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ToRCH-инфекций:

Способ
определения
инфекционного
агента

ПРЯМЫЕ МАРКЕРЫ

НЕПРЯМЫЕ МАРКЕРЫ

РИФ, ИГЦХ, ПЦР и др.

Определение специфических антител **IgG** и **IgM** (концентраций, динамики титров, степени созревания) к антигенам **ИФА**, ИХЛА, ИБ и др.

ВИД ИССЛЕДОВАНИЯ

СКРИНИНГ


ИФА, ИХЛА, и др.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ

ИБ, ПЦР, определение ИА,

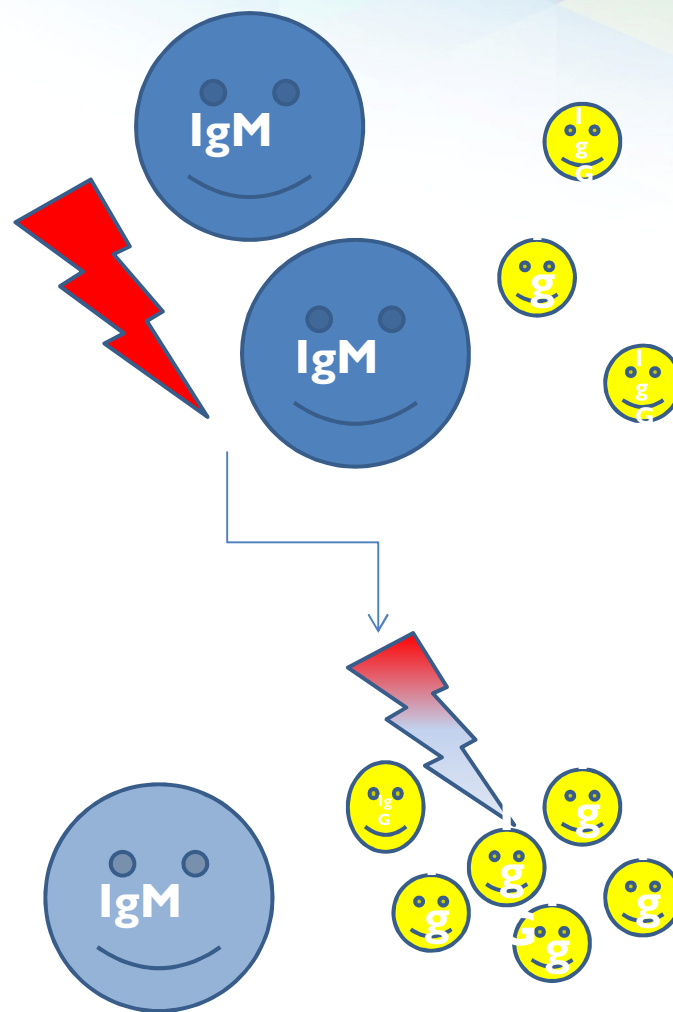


. **Антиген** - структурный элемент вирусной (микробной) частицы. 

Антитела - это белки сыворотки крови (иммуноглобулины – ) и других биологических жидкостей, которые вырабатываются в ответ на введение чужеродных органических веществ (антигенов).

Сила иммунного ответа при любой инфекции нарастает постепенно, поэтапно вовлекая каждый из компонентов иммунной системы на определенной стадии заболевания.

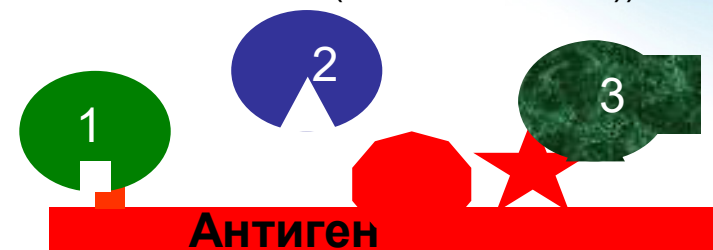
Выявив активность отдельного звена иммунитета, можно судить о давности инфицирования.



Авидность – степень прочности связывания специфических антител с антигеном, против которого направлены эти антитела, (сила кооперативных аффинных взаимодействий $A_v = \sum (af_1 + af_2 + af_n \dots +)$)



Высокоавидные



Низкоавидные



Высокая специфичность

Низкая специфичность



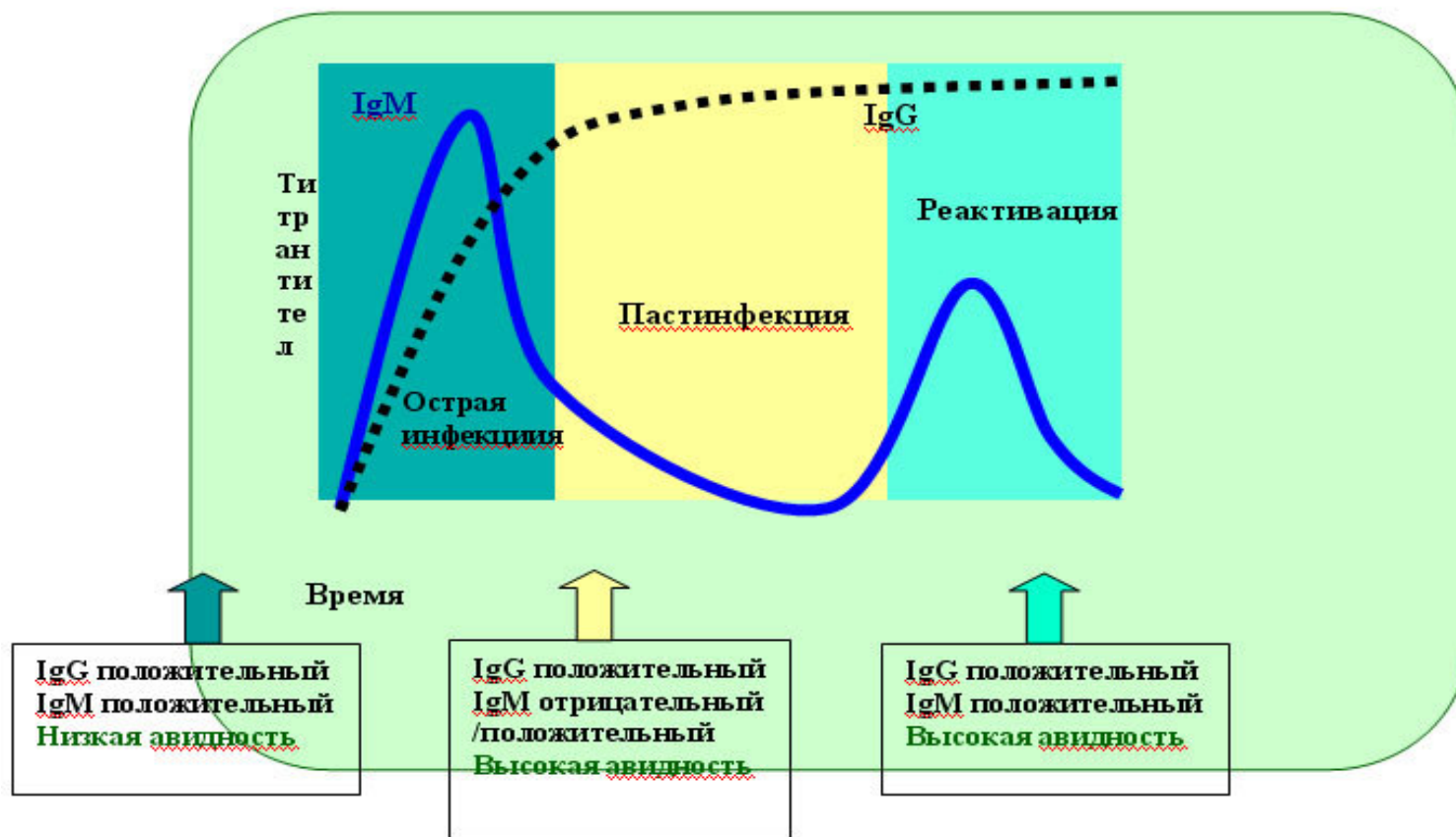
Высокая аффинность (IgM и IgA)

Низкая аффинность (IgG)

Специфичность – способность антител распознавать определенный тип эпитопов молекулы антигена(ов) и взаимодействовать с ним (ключ-замок).

Аффинность – мера прочности связывания активных зон антитела с реакционноспособными группами антигена, степень сродства (площадь контакта)

Свойства антител



ИгG	ИгM	Авидность	Диагноз
Отрицательный	Отрицательный		Нет инфекции
Положительный	Положительный	Низкая	Острая инфекция
Положительный	Положительный	Высокая	Реактивация
Положительный	Отрицательный	Высокая	Пастинфекция



Согласно РЕКОМЕНДАЦИЯМ Ассоциации врачей США (CDC)

Современным требованиям **скрининговой** диагностики
ToRCH-инфекций отвечают алгоритмы, включающие:

- Одновременное тестирование сыворотки на весь комплекс ToRCH-инфекций (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция, герпес и др.)
- Одновременное определение в сыворотке IgG и IgM-антител
- Количественный метод определения IgG-антител (в Международных единицах):
- Определение IgM антител с использованием технологии «μ-capture» (μ-захвата):
- Определение авидности IgG антител



АЛКОР БИО ПРЕДСТАВЛЯЕТ
НАБОРЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ToRCH-инфекций под маркой Radim

**ТРАНСФЕР ИТАЛЬЯНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ НА
ПЛОЩАДКУ АЛКОР БИО!**

ИТАЛЬЯНСКОЕ КАЧЕСТВО –РОССИЙСКОЕ
ПРОИЗВОДСТВО, РУ –
достойное импортозамещение!



ToRCH-Radim:
классификация по трем сходным схемам постановки



IgM-
«capture»

- **Toxoplasma** «Токсоплазма **IgM**»
- **Rubella** «Краснуха **IgM**»
- **Cytomegalovirus** «ЦМВ **IgM**»

IgG
кач./колич

- **Toxoplasma** «Токсоплазма **IgG**»
- **Rubella** «Краснуха **IgG**»
- **Cytomegalovirus** «ЦМВ **IgG**»

IgG
авидность

- **Toxoplasma** «Токсоплазма **IgG**-авидность»
- **Rubella** «Краснуха **IgG**-авидность»
- **Cytomegalovirus** «ЦМВ **IgG**-авидность»



ISO 9001
Certificate №
RU 227131





Кач./колич. IgG "Radim"

Tоxoplasma «Токсоплазма IgG»

Rubella «Краснуха IgG»

Cytomegalovirus «ЦМВ IgG»

ДВУХСТАДИЙНЫЙ «СЭНДВИЧ»

Общее время основных инкубаций 60+30 мин

(планшет заклеен пленкой)

Готовый Cut-Off и CAL

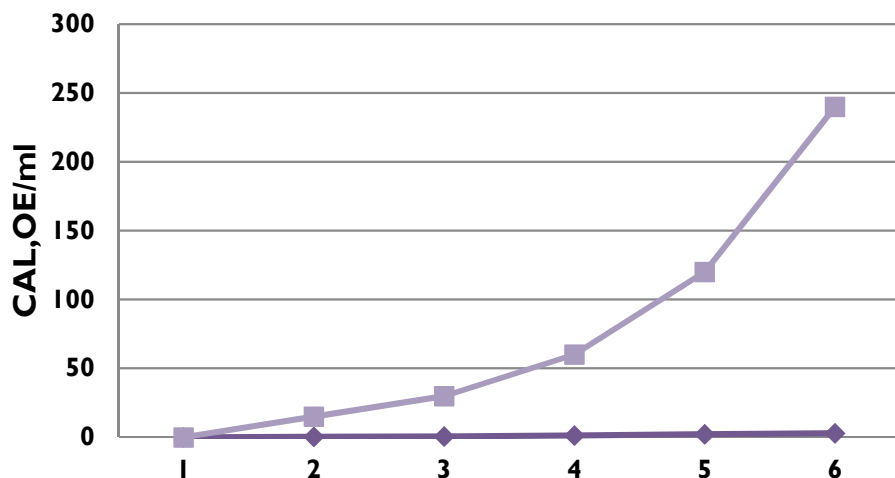
Качественный анализ: Rubella

ОП neg CAL 0

ОП Cut-Off CAL 15

Если ОП < ОП Cut-Off не реактивен

Калибровочная кривая



Количественный анализ

450 nm CAL аттестованы по **Международным стандартам Rubella**

CAL 0 ME/мл 0.015

CAL 15 ME/мл 0.309

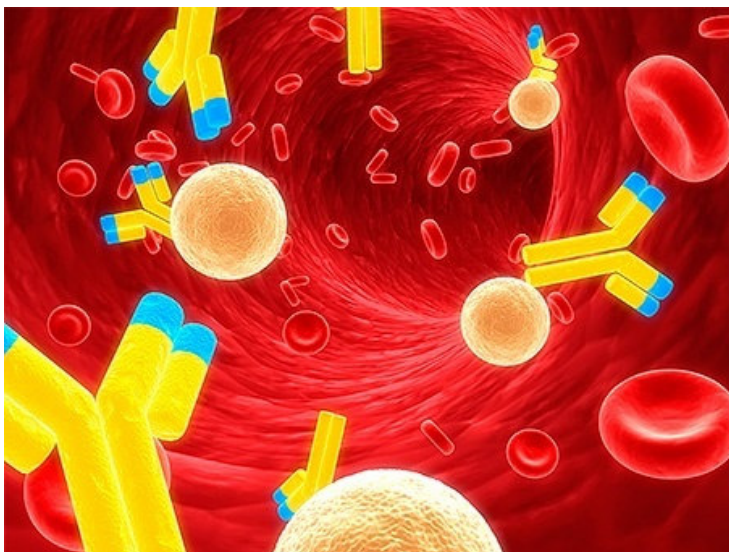
CAL 30 ME/мл 0.591

CAL 60 ME/мл 1.280

CAL 120 ME/мл 2.170

CAL 240 ME/мл 2.898





IgG Avidity “Radim”

Tохорlasma «Токсоплазма IgG-авидность»

Rubella «Краснуха IgG-авидность»

Cytomegalovirus «ЦМВ IgG-авидность»

трехстадийный «сэндвич»

Время основных инкубаций:

60+30(60 Тохо)+30 мин

Предварительное разведение сывороток(1:300)

Планшет с АГ; образцы в дубликатах; Низкоавидный и Высокоавидный контроли

Важна инкубация - с реагентом для диссоциации (мочевиной) для удаления низкоавидных тел

$K_{avid} (\%) = \frac{ОП \text{ с реагентом для диссоциации}}{ОП \text{ без обработки}} \times 100$

Для краснухи :

ИА < 40% - низкая авидность

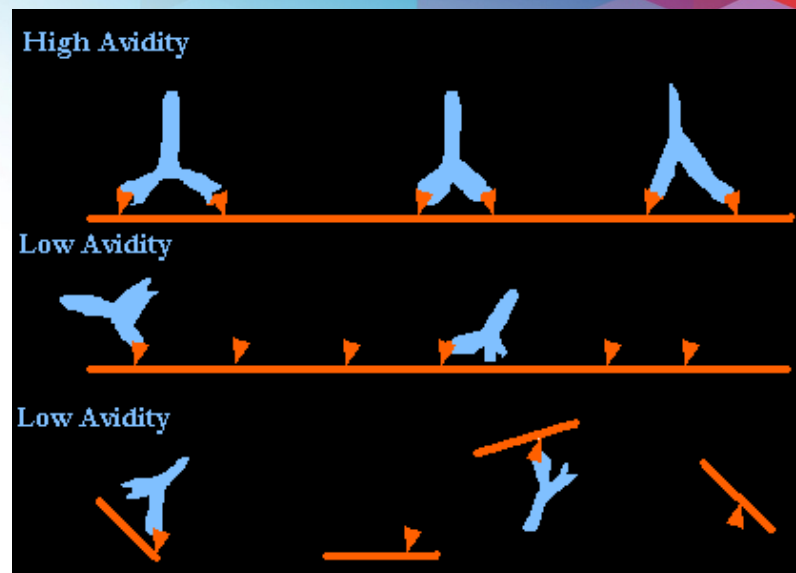
ИА 40-60% - промежуточная авидность

ИА > 60% - высокая авидность



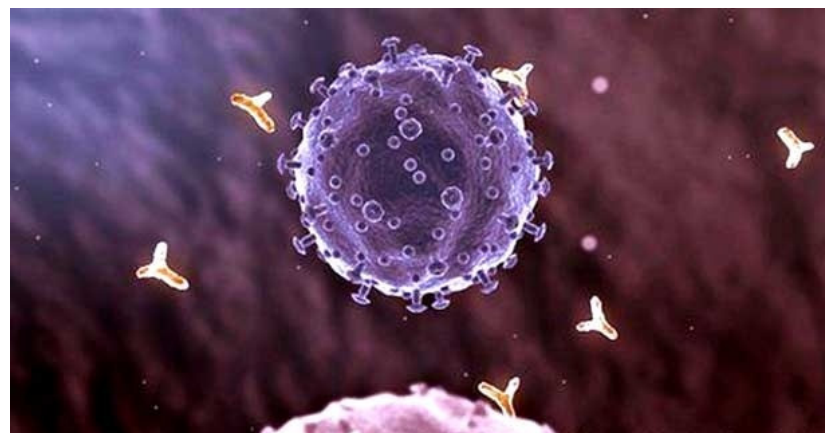
IgG Avidity “Radim”

*Схематическое изображение
принципа
ИФА-выделения низкоавидных
антител*



DISS-

**Реагент для диссоциации -
раствор с мочевиной удаляет
низкоавидные тела**



Качественный IgM “Radim”

Tоxoplasma «Токсоплазма IgM»

Rubella «Краснуха IgM»

Cytomegalovirus «ЦМВ IgM»

ТРЕХСТАДИЙНЫЙ «СЭНДВИЧ»

Общее время основных инкубаций
60+60+30 мин

(планшет заклеен клейкой бумагой)

Готовый Cut-Off

ВСЕГДА МЕТОД «μ-capture»
(μ-захвата)



Все лаборатории Санкт-Петербурга подтверждают сомнительные результаты для беременных в больнице им. Боткина - ГОРОДСКОЙ КОНСУЛЬТАТИВНО - ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР (ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ),

**Лучшая экспертная лаборатория СПб
выбирает ТЕСТ-СИСТЕМЫ
для диагностики ToRCH-инфекций
бренда Radim**



ПОЧЕМУ ЛУЧШИЕ ЭКСПЕРТНЫЕ ЛАБОРАТОРИИ
Санкт-Петербурга рекомендуют
тест-системы ToRCH - Radim
как альтернативу ИММУНОБЛОТУ?

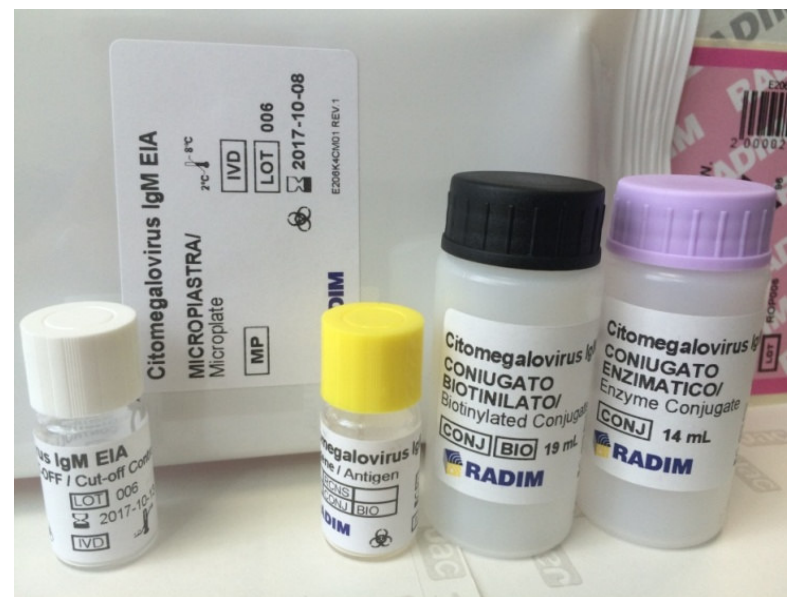
**ЧТО ОПРЕДЕЛЯЕТ
ВЫСОКУЮ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И
СПЕЦИФИЧНОСТЬ тест-
систем ToRCH-Radim?**



Рассмотрим на примере самого сложного и самого важного для диагностики ToRCH теста:

Radim

Cytomegalovirus «ЦМВ IgM»



ЦМВ IgM

Чаще всего лаборатории при определении IgM ЦМВ сталкиваются с двумя проблемами:

Много ЛП и есть ЛО

(Низкая специфичность

и

недостаточная чувствительность)

почти у всех применяемых в лабораториях тестов на ЦМВ



Возможные причины ЛО (низкой чувствительности) тест-систем ЦМВ IgM:

1. IgG после перенесенной (латентной) инфекции могут успешно конкурировать за антиген с IgM, образовавшимся в ответ на новую инфекцию (IgG меньшего размера, чем IgM).

Возможные причины ЛП (низкой специфичности) тест-систем:

1. Ревматоидный фактор (РФ- аутоантитела преимущественно класса IgM).

В «сэндвиче» РФ может связывать IgG и образовывать перекрестный комплекс.

2. Вирус герпеса (HSV) и вирус Эпштейна-Барра эволюционно родственны ЦМВ и имеют с ним множественные общие антигенные детерминанты

«Использование разных форматов определения IgM при диагностике инфекционных заболеваний» Чарлз Ли и соавторы



АНТИТЕЛА: особенность **IgM –большой размер** молекулы затрудняет выделение обычным методом

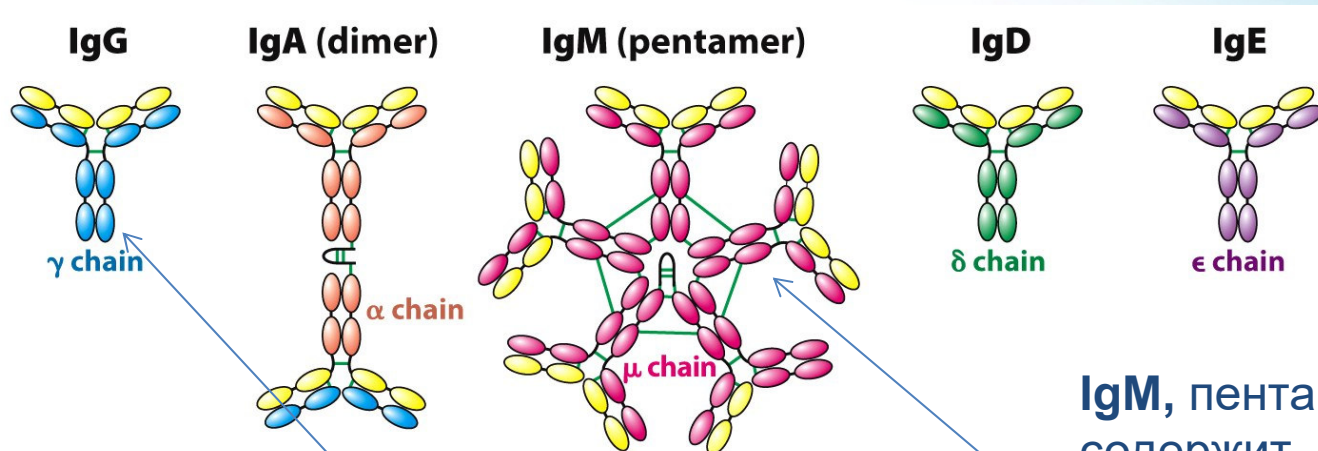
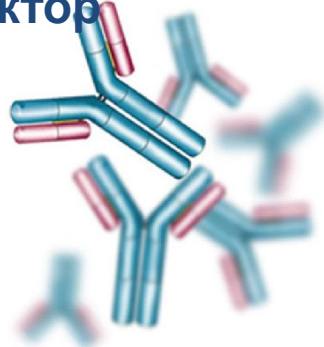
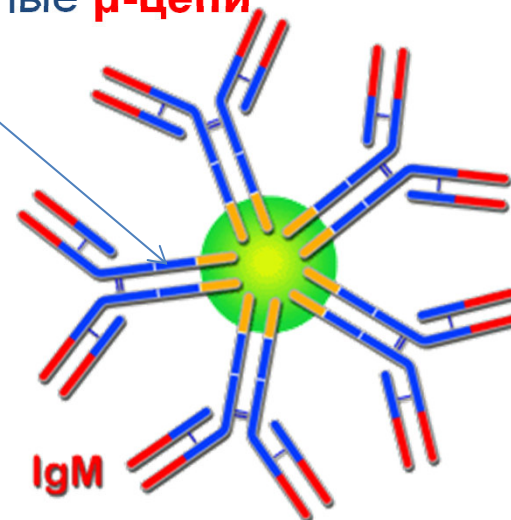


Figure 34.8
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

IgG
и релматоидный фактор
содержат
γ-цепи



IgM, пентамер,
содержит
тяжелые **μ-цепи**



Метод «μ-capture» «ЦМВ IgM» Radim - воздействие на μ-цепь IgM

На планшете :

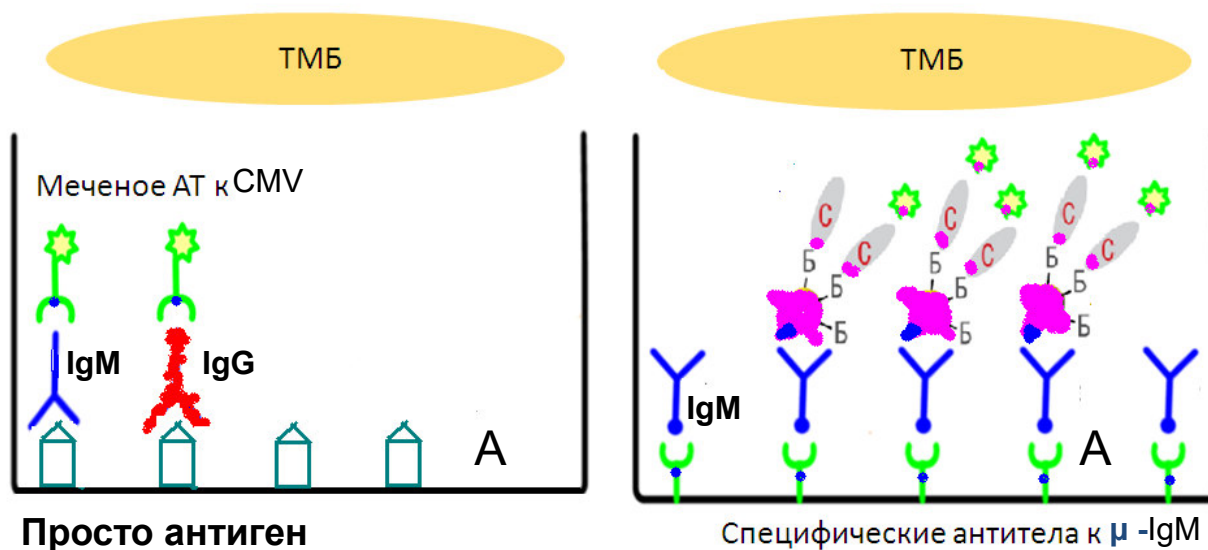
антитела против μ-цепей антител IgM

Варианты ИФА-анализа

«СЭНДВИЧ»

«capture»-вариант

А-планшет
Б -антиген ЦМВ
С-Биотин
- Стрептавидин с меткой



Что дает «μ-capture»?

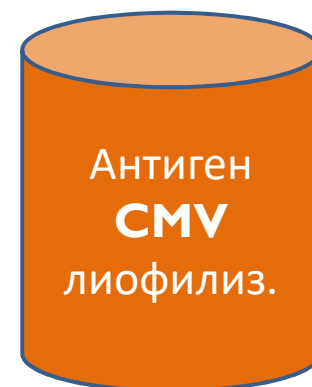
Это указано в инструкции к тест-системе «ЦМВ IgM» Radim:

- полный захват всех IgM-(**μ-цепь IgM**)
- исключение ревматоидного фактора



Что убирает перекрёст других герпесвирусов?

**Снижают специфичность (ЛП)
родственные герпесвирусы:
Вирус простого герпеса,
Эпштейна-Барр, ветряной оспы**

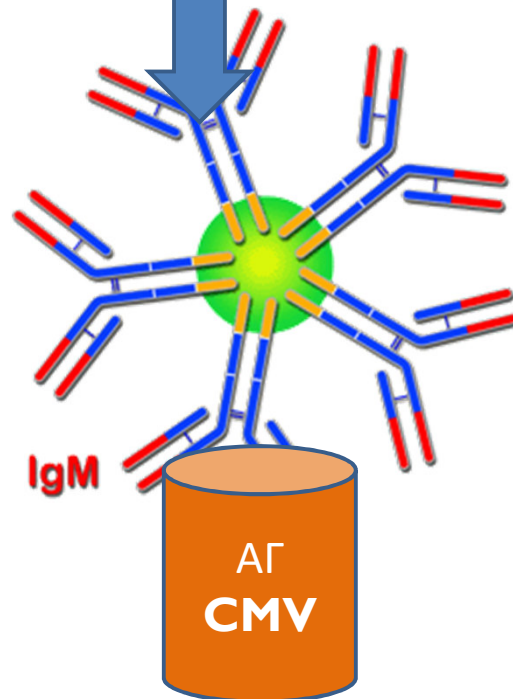


Лиофилизат антигена CMV
при внесении в биотин! (конъюгат N1)
позволяет полностью
убрать перекрестное влияние в тест-системе
«ЦМВ IgM» Radim !



ЧЕТКИЙ «СЭНДВИЧ»-только IgM к CMV «ЦМВ IgM» Radim

«capture»-антитела против μ -цепей антител
IgM



Н.В.! Эти особенности позволяют использовать в ТЗ для тендеров в качестве уникальной тест системы «ЦМВ IgM» Radim



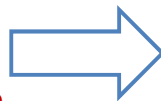
ВЫБИРАЯ АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДИКИ, **N.B!**

«capture» не во всех ТЕСТ-СИСТЕМАХ дает оптимальную чувствительность!

Что повышает чувствительность в тест-системах Radim?

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫЕ ИНКУБАЦИИ С ДВУМЯ КОНЬЮГАТАМИ ВАЖНЫ ДЛЯ ВЫСОКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ!

первая инкубация с биотином
Тест-система «ЦМВ IgM» Radim



вторая инкубация со стрептавидином



одна инкубация с одним конъюгатом
другие тест-системы



Дополнительные приемы
совершенствования ИФА тест-систем
(Вашукова С.С. Доклад на
МИАЦ, ноябрь 2016, на сайте МИАЦ,
4 сентября 2017)

«Для повышения чувствительности и
специфичности:

- 1) Многостадийность вообще (2-х и более
стадийные наборы обладают лучшими
диагностическими характеристиками)
- 2) Для усиления сигнала (чувствительности) без
потери специфичности используют систему
биотина – стрептавидина, основанную на высоком
родстве этих компонентов: биотин -
низкомолекулярный растворимый витамин,
стрептавидин – бактериальный белок.

Система биотин-стрептавидин (БС), дающая дополнительные участки
связывания, используется в реагентах для автоматических
анализаторов (фирм Roche, Abbott и др.)»

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫЕ ИНКУБАЦИИ

вначале с конъюгатом -1-биотин,

затем с конъюгатом- 2- стрептавидин –дают усиление сигнала как

ОСНОВНОЙ ФАКТОР высокой чувствительности!



Два разных типа инкубаций с конъюгатами

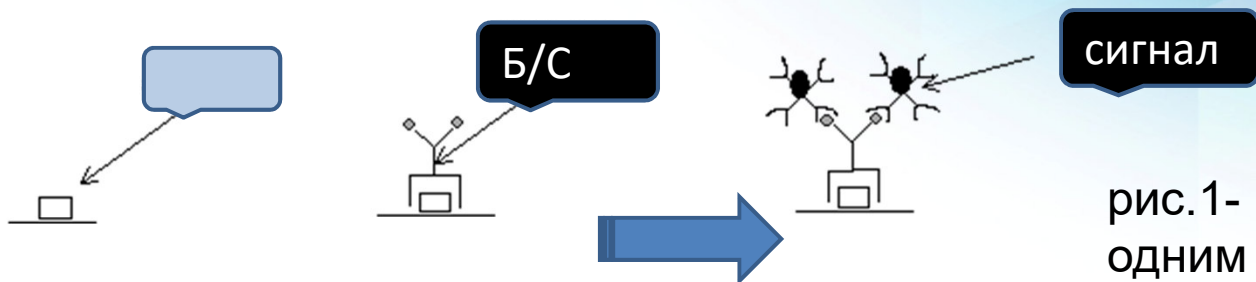


рис.1- инкубация с одним конъюгатом Б/С-Биотин/Стрептавидин

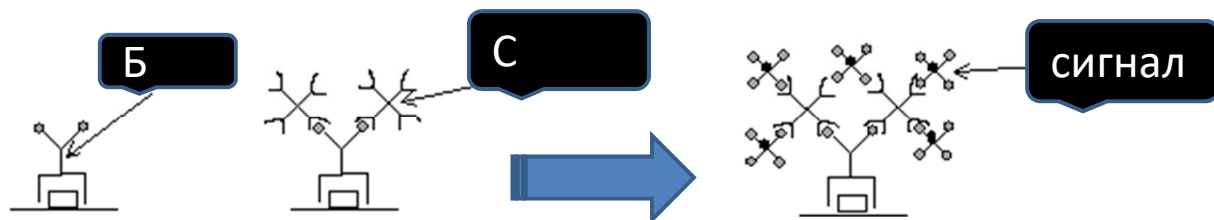


рис.2- две последовательные инкубации с конъюгатами: Б-биотин, потом С-стрептавидин

«... происходит многократное усиление сигнала»

Наталья Кузьмина « Моноклональные антитела» рис.2

увеличение чувствительности



ВСЕ тест-системы ToRCH-Radim многостадийны, это обосновано последовательностью инкубаций!

«ЦМВ IgM» Radim:

- 1 инкубация- «capture» воздействие на μ -цепь IgM**
- 2 инкубация - лиоф. Антигена ЦМВ + конъюгат биотин**
- 3 инкубация - с меткой конъюгат стрептавидин**



**Длительность постановки –
ряд последовательных инкубаций-
гарантия качества наборов Radim**



ЧТО ДЛЯ ВАС ВАЖНЕЕ?

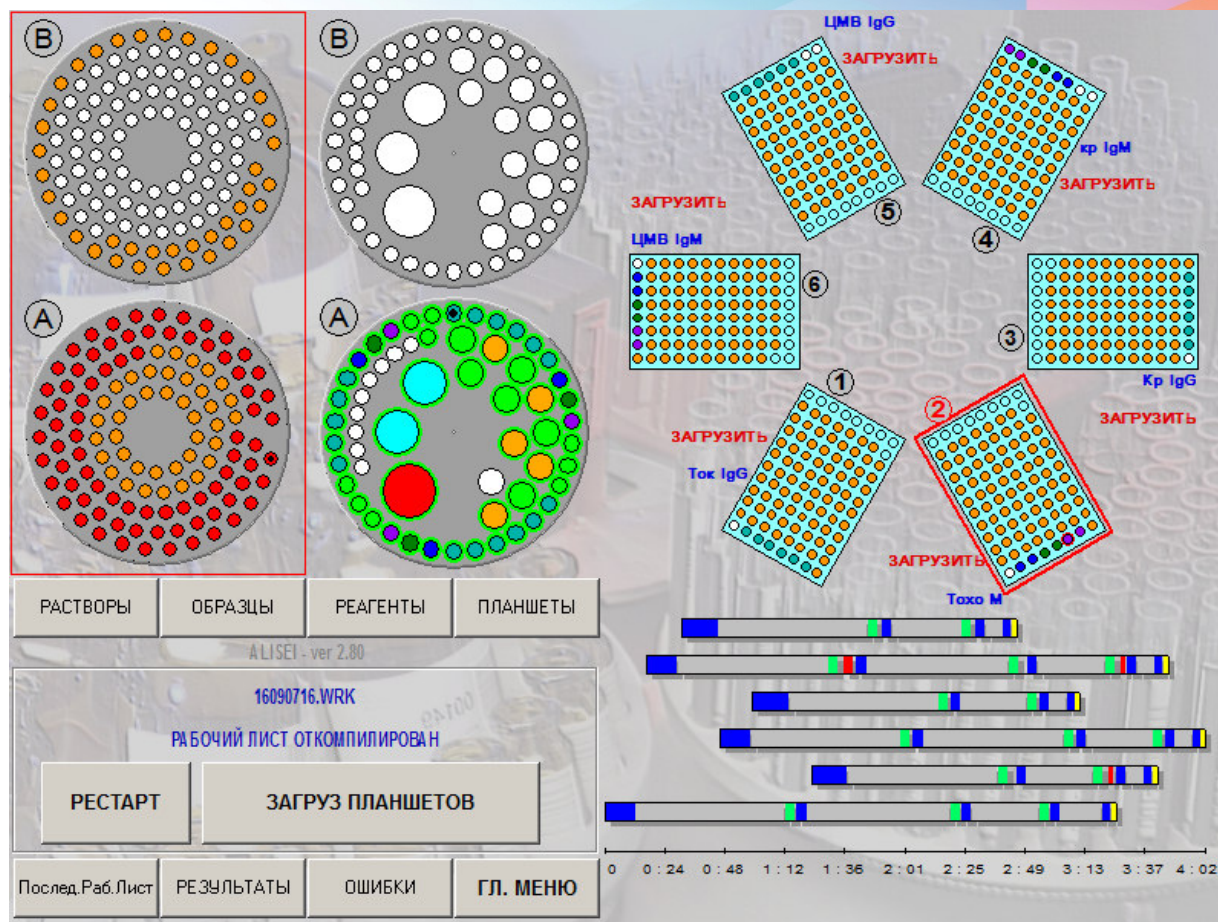


ToRCH-Radim –это дополнительно:

- **Универсальные схемы постановки и универсальные реагенты** дают возможность определения антител каждого класса IgG (IgM, IgG авидность) всех ToRCH-инфекций за одну сессию при одном разведении сывороток
- **Готовый Cut-Off вместо расчетного** –точная граница отсечения – ОП кр.
- **Готовые калибраторы** аттестованные по Международным стандартам (Стандарт WHO, Internationale Standart PEL, Института Пауля Эрлиха) –новая ступень точности теста важно для IgG
- **Длительные сроки хранения рабочих растворов** контролей (2 мес) и буферов (1мес)-важно для, IgG авидность



Возможности Alisei Q.S. –диагностика ToRCH



За одну сессию возможна постановка 80 сывороток на ЦМВ, Токсо и Rubella (IgM и IgG)

За одну сессию возможна постановка 45 сывороток на ЦМВ, Токсо и Rubella (IgG и IgG авидность)



ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ТЕЗИСЫ



Тест-системы ToRCH-Radim
разработаны и воспроизведены Алкор Био
как **оптимальный формат** теста для связывания и детекции
специфичных антител.

Элиминация IgG и ревматоидного фактора при определении IgM
и отсутствие влияния
«перекрестных» вирусов
в сочетании с оптимальной чувствительностью, обеспечиваемой
многостадийностью

значительно повышает достоверность результата.



Теоретическое обоснование высокой
эффективности

**-ОТЛИЧНЫЙ СТИМУЛ
к апробации тест-систем
ToRCH-Radim!**





Уважаемые коллеги!

Благодаря интенсивному росту и развитию проекта «Инфекционная диагностика» Алкор Био **снижает цены** на иммуноферментные тест-системы для диагностики **ToRCH-инфекций** европейского бренда **RADIM**.

С января 2018 года эти тест-системы доступны
ДЛЯ ЛАБОРАТОРИЙ, КОТОРЫЕ ЦЕНЯТ ВЫСОКУЮ СПЕЦИФИЧНОСТЬ!

Алкор Био предлагает **УНИКАЛЬНЫЙ НАБОР** для скрининга цитомегаловируса «**CMV IgM**» Radim. В основе него - «**capture**»-метод, в котором **отсутствует влияние ревматоидного фактора и IgM перекрестных вирусов герпеса** (вирус Эпштейна-Барр, вирус ветряной оспы, вирус простого герпеса).

Снижение цены - отличный стимул для Вас протестировать и убедиться, **ЗОЛОТОЙ СТАНДАРТ** диагностики ToRCH-инфекций **СУЩЕСТВУЕТ!**

Диагностика ToRCH-инфекций вместе с АЛКОР БИО и RADIM!

Кат. номер	Тест-система	Комплектация	2017 год, цена руб., с НДС	2018 год, цена руб. с НДС
K1TG	Toxoplasma IgG	96	5 192	4 499
K1TGB	Toxoplasma IgG	192	7 854	6 908
K1TM	Toxoplasma IgM	96	5 632	4 950
K1TGA	Toxoplasma IgG Avidity	48	5 445	4 598
K2RG	Rubella IgG	96	5 764	4 499
K2RGB	Rubella IgG	192	8 250	6 908
K2RM	Rubella IgM	96	6 490	4 950
K2RGA	Rubella IgG Avidity	48	5 665	4 598
K3CG	CMV IgG	96	5 192	4 499
K3CGB	CMV IgG	192	7 854	6 908
K4CM	CMV IgM	96	6 512	4 950
K3CGA	CMV IgG Avidity	48	5 192	4 598



По вопросам приобретения обращайтесь к менеджерам отдела продаж по телефонам и эл. почте
в Санкт-Петербурге: +7 (812) 677-87-79, 677-21-62 sale@alkorbio.ru;
в Москве: +7 (499) 725-72-90, 725-73-14 alkorbio_m@mail.ru; alkorbio@yandex.ru;
в Ростове-на-Дону: +7 (863) 207-94-88 ug@alkorbio.ru; mshumko@alkorbio.ru.

**Ценовая политика
проекта 2018-
снижение цен
ToRCH Radim**



Для диагностики ToRCH инфекций
производит АЛКОР БИО 4 набора:

Токсоплазма ИФА-IgG качеств./колич.

Двухстадийный- время основных инкубаций : 45+30 мин
(60+30 мин «Radim»)

Инкубации без заклеивания

Но при этом увеличение чувствительности до 1,3МЕ/мл (0,6 МЕ/мл
«Radim»)

ТоксоИФА-IgG-авидность

Трехстадийный: время основных инкубаций 30+15+30 (60+30+30
«Radim»)

Разведение образцов в лунках

Инкубации без пленок

ГерпесИФА-2IgG качеств./колич.

Двухстадийный- время основных инкубаций: 45+30 мин

Инкубации без пленок

ГерпесИФА-1IgG качеств./колич.

Двухстадийный- время основных инкубаций: 45+30 мин

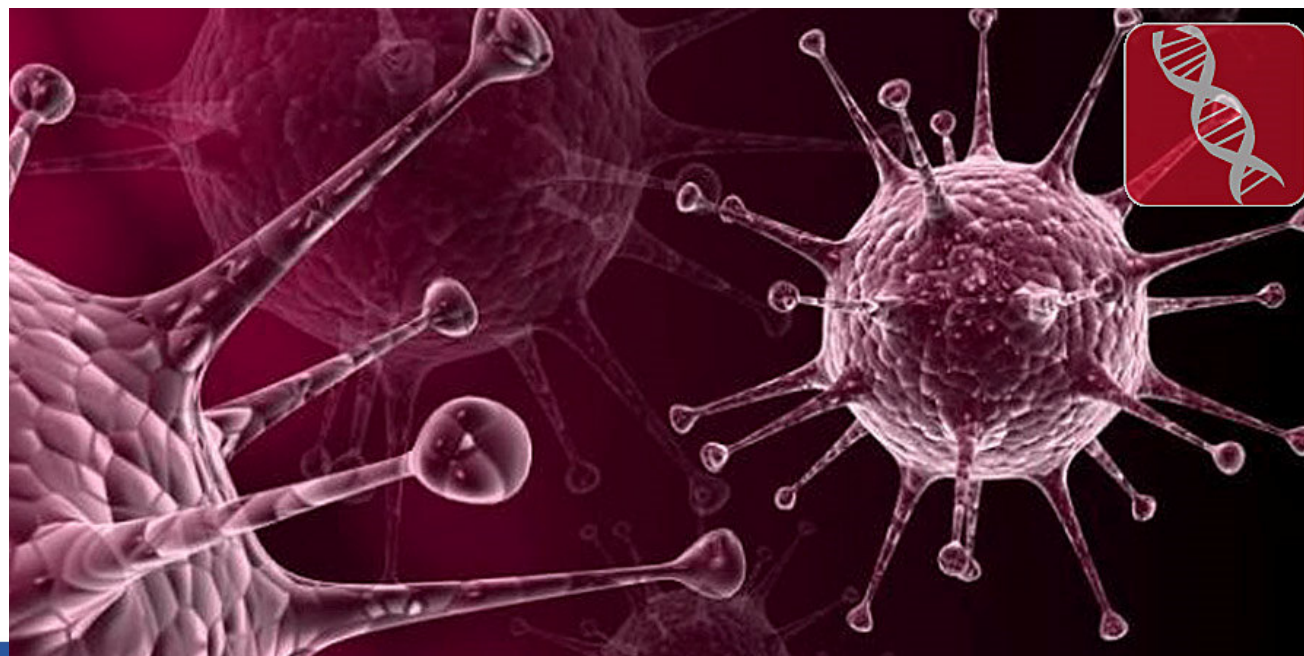
Инкубации без пленок

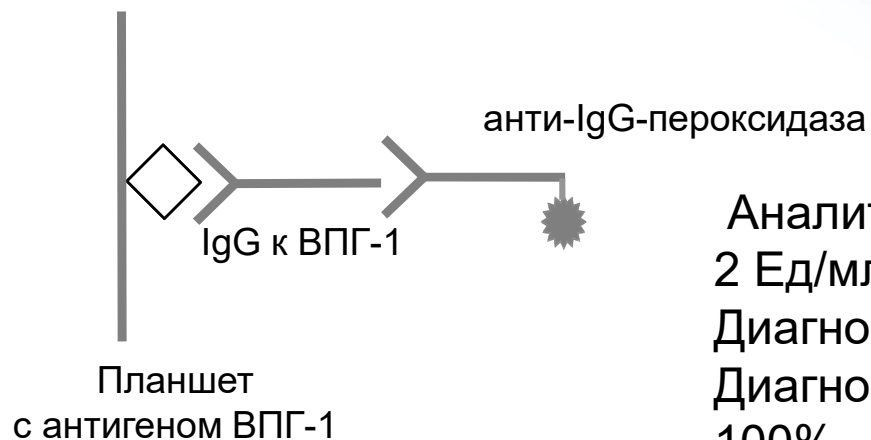


ПЕРЕРЕГИСТРАЦИЯ: «ГерпесИФА-1IgG»

НОВОЕ РУ на ВПГ-1

№ ФСР 2010/08988 от 15.02.2018





Планшет
с антигеном ВПГ-1

Схема анализа

анти-IgG-пероксидаза

Аналитическая чувствительность-
2 Ед/мл

Диагностическая специфичность 98,9%

Диагностическая чувствительность
100%.

N.B.!

- *«Двухстадийный сэндвич»*
- *Возможность постановки в дублях и монопликатах*
- *Возможность постановки без шейкирования*
- *Дополнительные калибровочные пробы (№2 и №5) и КС для рекалибрации по референсной калибровочной кривой при постановке на Alisei Q.S.*
- **ОБРАЗЕЦ: СЫВОРОТКА И ПЛАЗМА**



ТЕСТ-СИСТЕМА «ГерпесИФА-1IgG»

Единственная из российских производителей дает
возможность проведения **КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА**

Срок годности 18 мес, сроки хранения набора после
вскрытия в течении всего срока годности

Единая комплектация: РУКИ/АВТОМАТ

96/192



Благодарю за Ваше внимание!



**Крылова Ольга,
руководитель проекта
«Инфекционная диагностика»
ООО Алкор Био**



