

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.993.192.6-053.2-055.26-078

Боронина Л.Г.^{1,2}, Блинова С.М.², Саматова Е.В.²

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТОКСОПЛАЗМОЗА У ДЕТЕЙ И БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ИММУНОХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ НА ТЕСТ-СИСТЕМАХ РАЗНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра клинической лабораторной диагностики и бактериологии, 620028, Екатеринбург, Россия;

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», лаборатория клинической микробиологии, 620149, Екатеринбург, Россия

Токсоплазмоз — заболевание, представляющее потенциальный риск для плода, поэтому при подозрении на внутриутробную инфекцию необходимо выявлять антитела к возбудителю данной инфекции. При исследовании 65 сывороток новорожденных, детей первого года жизни и беременных женщин антитела IgG обнаружены у 21,5 и 26,2% обследованных на тест-системах Euroimmun AG и Virion-Serion. IgM обнаружены у 9,4% обследованных на тест-системах обоих производителей. Для более достоверной верификации результатов выявления антител к токсоплазме необходимо исследовать avidность специфических IgG.

Ключевые слова: токсоплазмоз; антитела; внутриутробные инфекции.

Для цитирования: Боронина Л.Г., Блинова С.М., Саматова Е.В. Серологическая диагностика токсоплазмоза у детей и беременных женщин иммунохимическим методом на тест-системах разных производителей. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63(1): 41-44. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-1-41-44>

Boronina L.G.^{1,2}, Blinova S.M.², Samatova E.V.²

THE SEROLOGICAL DIAGNOSTIC OF TOXOPLASMOSIS IN CHILDREN AND PREGNANT WOMEN USING IMMUNE CHEMICAL TECHNIQUE BY TEST-SYSTEMS OF VARIOUS MANUFACTURERS

¹The Federal state budget educational institution of higher education "The Ural state medical university" of Minzdrav of Russia, 620028 Yekaterinburg, Russia

²The state budget institution of health care "The oblast children clinical hospital №1", 620149 Yekaterinburg, Russia

The toxoplasmosis is a disease representing a potential risk for fetus. This is the reason to detect antibodies to agent of the given infection in case of any suspicion to intrauterine infection. The analysis was applied to 65 samples of blood serum of newborns, children of the first year of life and pregnant women. The IgG antibodies were detected in 21.5% and 26.2% of individuals examined by test-systems Euroimmun AG and Virion-Serion. The IgM antibodies were detected in 9.4% of individuals examined by test systems of both manufacturers. To make verification of the results of detection of antibodies to toxoplasmosis even more reliable avidity of specific IgG antibodies is to be analyzed.

Key words: toxoplasmosis; antibodies; intrauterine infection

For citation: Boronina L.G., Blinova S.M., Samatova E.V. The serological diagnostic of toxoplasmosis in children and pregnant women using immune chemical technique by test-systems of various manufacturers. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2018; 63 (1): 41-44. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-1-41-44>

For correspondence: Boronina L.G., doctor of medical sciences, professor, of the chair of clinical laboratory diagnostic and bacteriology of the Federal state budget educational institution of higher education "The Ural state medical university". e-mail: boroninalg@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 20.07. 2017

Accepted 01.08.2017

Введение. Токсоплазмоз — заболевание, представляющее потенциальный риск для плода и новорожденного. Обнаружение антител имеет принципиальное значение для прогнозирования опасности развития токсоплазмоза у плода и новорожденного и входит в диагностику TORCH-комплекса [1—3]. В Германии до 75% женщин фертильного возраста не имеют антител к токсоплазмам, это может привести к тяжёлым порокам развития плода или спонтанному аборт. При инфицировании

во время беременности возможна трансплацентарная передача *Toxoplasma gondii* на любой стадии развития плода, и последствия для новорожденного бывают разными в зависимости от времени инфицирования. Однако опасность трансплацентарной передачи возбудителя существует только у беременных, у которых обнаружены антитела (ранее инвазии не было) и возникла первичная инфекция [4, 5]. Анализ образцов крови методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики острой фазы инфекции у детей в большинстве случаев недостаточно информативен, отрицательный результат не позволяет достоверно исключить недавнее инфицирование. Серологические методы более предпочтительны как при диагностике острой фазы инфекции, так и

Для корреспонденции: Боронина Любовь Григорьевна, д-р мед. наук, проф. каф. клин. лаб. диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»; e-mail: boroninalg@mail.ru

ИММУНОЛОГИЯ

изучении специфического иммунитета, при этом стандартным методом является метод иммуоферментного анализа (ИФА). Наибольшую трудность представляет серологическая диагностика инфекций у недоношенных новорождённых с массой тела менее 1000 г [6, 7].

Целью настоящего исследования явилось сравнение результатов выявления антител к *T. gondii* в сыворотках крови методом ИФА на тест-системах разных производителей.

Материал и методы. Исследовали 65 сывороток крови, полученных от детей первого года жизни, а также беременных женщин перинатального центра, в 2016 г. Исследования проводились на тест-системах «Euroimmun AG», Германия — *Toxoplasma gondii* IgM, *Toxoplasma gondii* IgG; «Virion-Serion», Германия — «Serion ELISA classic», *T. gondii* G/M; аналитическая чувствительность ИФА на «Euroimmun AG» к *Toxoplasma gondii* IgG составляет 0,3 МЕ/мл в соответствии с третьим международным стандартом. В тест-системе «Virion-Serion», Германия, «SERION ELISA classic» *T. gondii* G/M результаты определялись в ЕД/мл, отличных от международных стандартов. Исследования на тест-системах «Euroimmun AG» проводились по мере поступления сывороток от больных в течение трех месяцев, рутинно, учёт результатов выполняли при длине волны 450 нм (согласно инструкции к тест-системам) на спектрофотометре

Labsystems Multiscan Plus, Финляндия; на тест-системах «Virion-Serion», Германия — одномоментно, для сравнения, учёт результатов при длине волны 405 нм на автоматическом ИФА-анализаторе Lazurite, США.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программного пакета Statistica, версия 6.0 («StatSoft Inc.», США).

Результаты и обсуждение. Поскольку результат количественных исследований на разных тест-системах оценивается в различных единицах, разработанных производителями, приведена только качественная сравнительная оценка. Сравнительная оценка результатов выявления антител к токсоплазме представлены в таблице 1. При исследовании IgM выявлены антитела у 9,4% обследованных как на тест-системе «Euroimmun AG», так и на «Virion-Serion». IgM обнаружены у двух детей в возрасте 3 и 6 мес, у трёх детей старше года и у одной беременной женщины. Сомнительные результаты обнаружены у 7,8% пациентов, обследованных на тест-системе «Euroimmun AG», тогда как у обследованных на тест-системе «Virion-Serion» сомнительных результатов не было. Не обнаружены антитела IgM у 82,8 и 90,6% обследованных на тест-системах «Euroimmun AG» и «Virion-Serion» соответственно.

IgG к токсоплазме не выявлены у 76,9% обследованных («Euroimmun AG») и 72,3% («Virion-Serion»),

Таблица 1

Сравнительные исследования наличия антител к *Toxoplasma gondii*

Результат ИФА	Антитела IgM к <i>T. gondii</i> (n = 64)			Антитела IgG к <i>T. gondii</i> (n = 65)		
	«Euroimmun», абс./%	p	«Virion-Serion», абс./%	«Euroimmun», абс./%	p	«Virion-Serion», абс./%
Антитела не обнаружены	53/82,8	0,2	58/90,6	50/76,9	0,54	47/72,3
Антитела обнаружены	6/9,4	1	6/9,4	14/21,5	0,54	17/26,2
Результат сомнительный	5/7,8	0,02	—/—	1/1,5	1	1/1,5
Совпадение результатов	Результаты не совпали в 5(8%) случаях			Результаты не совпали в 6 (9%) случаях		

Таблица 2

Результаты исследования сыворотки крови ребёнка с подозрением на внутриутробную инфекцию

Дата направления на исследование/тест-системы	03.11.2016	07.12.2016	12.01.2017	05.04.2017	03.11.2016
	«Euroimmun AG»	«Euroimmun AG»	«Euroimmun AG»	«Euroimmun AG»	«Virion-Serion»
Направительный диагноз	ВУИ*, гепатит	Гепатит	Гепатит	ЦМВ-инфекция	ВУИ, гепатит
ЦМВ IgM	+	+	+	—	#
ЦМВ IgG	#	+	+	+	#
ЦМВ авидность IgG, %	41,4 погр.	46 погр.	50,8 погр.	55 погр.	#
ВПГ 1/2 IgM	#	#	—	#	#
ВПГ IgG	#	#	+	#	#
ВПГ IgA	#	#	—	#	#
<i>T. gondii</i> IgM	+	—	—	#	—
<i>T. gondii</i> IgG	+	+	погр.	#	—
ВЭБ капсидный АГ IgM	#	#	+	#	#
ВЭБ капсидный АГ IgG	#	#	+	#	#
ВЭБ ранний АГ IgM	#	#	—	#	#
ВЭБ ранний АГ IgG	#	#	+	#	#
ВЭБ ядерный АГ IgG	#	#	+	#	#

Примечание. * — внутриутробная инфекция; «—» — антитела не обнаружены; «+» — антитела обнаружены; погр. — результат пограничный (в соответствии с инструкцией к тест-системе); # — тест не назначался.

сомнительный результат обнаружен у 1,5% обследованных на тест-системах обоих производителей.

Несмотря на то что при сравнении результатов, полученных на разных тест-системах, не получено значительных достоверных различий, вопрос об интерпретации каждого исследования важен для верификации диагноза, особенно при исследовании сыворотки крови новорождённых с подозрением на внутриутробную инфекцию и признаками инфекции TORCH.

При выявлении специфических антител к какому-либо возбудителю есть факторы, снижающие специфичность и ограничивающие возможности достоверной оценки результатов. Одна из причин сложностей в интерпретации — возможное присутствие в сыворотке крови так называемых ревматоидных антител. Ревматоидные факторы — это чаще всего аутоантитела класса М (IgM), связывающие иммунные комплексы антител класса G (IgG). Присутствие ревматоидных факторов — неспецифических антител IgM — может привести к ложноположительным результатам при определении специфических антител IgM. Также существует вероятность вытеснения специфических антител IgM с более слабыми связями специфическими же IgG-антителами с более сильными связями, конкурирующими за связывание с молекулами антигенов; в этом случае результаты определения IgM окажутся ложноотрицательными.

Для исключения влияния ревматоидных факторов пробы материала (сыворотки) необходимо предварительно обработать абсорбентом ревматоидного фактора (или каким-либо другим способом), который должен прилагаться к тест-системе или входить в её состав. В тест-системах многих производителей этап для нивелирования ревматоидных факторов не предусмотрен. В тест-системах «Euroimmun AG» и «Virion-Serion» предусмотрена предварительная инкубация исследуемой сыворотки с абсорбентом ревматоидного фактора, приложенным к тест-системе.

Среди возможных причин несовпадений результатов можно назвать активность антител к потенциально перекрёстным параметрам в исследуемой панели сывороток, например, поликлональная стимуляция выработки IgM вирусом Эпштейна—Барр (ВЭБ), парвовирусом В19, *lues*-инфекции.

Одним из наиболее вероятных способов, увеличивающих достоверность диагностических исследований при определении этиологии инфекции, является, несомненно, неоднократное исследование сывороток крови.

У пациента С.Л. (мальчик, возраст на момент первого обследования 1,5 мес. определены антитела к цитомегаловирусу (ЦМВ) — IgM, IgG, авидность IgG; вирусу простого герпеса (ВПГ) ½ типа — IgM, IgA, IgG; *T. gondii* — IgM, IgG; ВЭБ — антител к капсидному антигену (АГ) — IgM, IgG, раннему АГ — IgM, IgG, ядерному АГ — IgG на тест-системах «Euroimmun AG», Германия. В тест-системе «Virion-Serion», Германия, *T. gondii* — IgM, *T. gondii* — IgG исследована сыворотка от 3.11.16. Результаты выявления антител у ребёнка с подозрением на внутриутробную инфекцию в цитомегаловирусу, герпесу 1, 2 типа, вирусу Эпштейн—Барра и токсоплазме представлены в табл. 2.

В инструкции к тест-системе сообщается об отсутствии перекрёстных взаимодействий с антителами к различным бактериям и вирусам, в том числе к вирусам герпес-группы (ЦМВ, вирус Эпштейна—Барр — ВЭБ). Но известно, что эти вирусы обладают поликлональной стимуляцией иммунного ответа. При исследовании ре-

зультатов определения антител у пациента С.Л. к различным инфектам, возможно, связанных с внутриутробным инфицированием, обращает на себя внимание, что в крови ребёнка выявлены как антитела к цитомегаловирусу, так и антитела к вирусу Эпштейна—Барр, свидетельствующие об инфицировании и, возможно, развитии заболевания, связанного с этим вирусом. При этом антитела IgG и IgM к *T. gondii* выявлены в крови от 03.11.16 и 07.12.16 и не были обнаружены позднее. При использовании тест-систем «Virion-Serion», Германия, *T. gondii* G/M антитела не были выявлены и в исследовании от 03.11.16. По-видимому, IgG к *T. gondii* в крови ребёнка являлись материнскими, а выявление IgM к *T. gondii* в сыворотке крови явилось следствием поликлональной стимуляции, характерной для вирусов герпес-группы, инфицирование которыми и последующее развитие инфекции, вызванной ими, было доказано.

Выявление антител IgM к *T. gondii* не является абсолютным доказательством протекающей первичной свежей инфекции. По литературным данным, IgM к *T. gondii* при первичном инфицировании могут сохраняться в течение года и более, IgA — в течение 45 мес. Благодаря поликлональной стимуляции, например ВЭБ, хотя IgM к токсоплазме могут быть выявлены, это не будет являться доказательством инвазии. Необходимо проводить дополнительное исследование, например, в сыворотках крови, взятых с интервалом 7—14 дн, или исследовать авидность специфических антител. Авидность специфических антител повышается с течением времени в процессе созревания антител.

При сравнении результатов, полученных на разных тест-системах, статистически достоверных различий не выявили. Возможно, несоответствие результатов обнаружения IgM и IgG к токсоплазме на тест-системах разных производителей связано, в том числе, с различиями в оценке единиц учёта и диапазоном пограничных значений. Необходимо отметить трудности в оценке результатов, связанные с не всегда корректным переводом оригинальной инструкции к тест-системе производителя.

Заключение. При исследовании 65 сывороток новорождённых, детей первого года жизни и беременных женщин антитела IgG обнаружены у 21,5 и у 26,2% обследованных в тест-системах «Euroimmun AG» и «Virion-Serion». IgM обнаружены у 9,4% обследованных на тест-системах обоих производителей. В 7,8% случаев обнаружены сомнительные результаты в тест-системе «Euroimmun AG» — IgM и в 1,5% при выявлении IgG («Virion-Serion» и «Euroimmun AG»).

Таким образом, для диагностики внутриутробной инфекции, вызванной токсоплазмами, недостаточно выявить только IgM и IgG, необходимо изучать авидность антител IgG к *T. gondii*.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3, 6 см. REFERENCES)

1. Заводнова О.С., Безроднова С.М., Боташева В.С., Кальная Т.В. Врожденный токсоплазмоз. *Российский педиатрический журнал*. 2005; 1: 13—6.
2. Боровкова Е.И., Сидорова И.С. Факторы и условия, влияющие на процесс инфицирования плода на разных сроках беременности. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2004; 1: 48—50.

4. Лобзин Ю.В., Васильев В.В. Токсоплазмоз у беременных: клинические проявления, терапия и медикаментозная профилактика врожденного токсоплазмоза. *Российский медицинский журнал*. 2001; 5: 40—1.
5. Макаров О.В., Бахарева И.В., Ганковская Л.В., Идрисова Л.В. Современные представления о диагностике внутриутробной инфекции. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2006; 6(6): 11—5.
7. Меньшиков В.В., ред. *Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие*. М.: Лабора; 2009.
3. Karen E.J. *Overview of Torch infections (Perinatal TORCH infections)*. Yu.M. Bogdanov. UpToDate; 2002.
4. Lobzin Yu.V., Vasilyev V.V. Toxoplasmosis in pregnant women: clinical manifestations, therapy and medicamentous prophylaxis of congenital toxoplasmosis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2001; 5: 40—1. (in Russian)
5. Makarov O.V., Bakhareva I.V., Gankovskaya L.V., Idrisova L.V. Modern concepts of the diagnosis of intrauterine infection. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa*. 2006; 6(6): 11—5. (in Russian)
6. Lappalainen M., Hedman K. Serodiagnosis of toxoplasmosis. The impact of measurement of IgG avidity. *Ann. Ist. Super Sanita*. 2004; 40(1): 81—8.
7. Menshikov V.V., ed. *Methods of clinical laboratory research: A reference manual [Metody klinicheskikh issledovaniy. Spravochnik]*. M.: Labora; 2009. (in Russian)

REFERENCES

1. Zavodnova O.S., Bezrodnova S.M., Botasheva V.C., Kalnaya T.V. Congenital toxoplasmosis. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal*. 2005; 1: 13—6. (in Russian)
2. Borovkova E.I., Sidorova I.S. Factors and conditions affecting the process of infection of the fetus at different periods of pregnancy. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2004; 1: 48—50. (in Russian)

Поступила 20.07.17

Принята к печати 01.08.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.344-002-031.84-078.33

Гурина О.П.¹, Степанова А.А.¹, Дементьева Е.А.¹, Блинов А.Е.¹, Варламова О.Н.¹, Блинов Г.А.²

ОСОБЕННОСТИ АУТОИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ БОЛЕЗНИ КРОНА У ДЕТЕЙ

¹Научно-исследовательский центр ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, 194100, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, 194100, Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования — выявить особенности аутоиммунного реагирования у детей, страдающих болезнью Крона (БК). Обследованы 62 пациента в возрасте 2—17 лет с диагнозом болезни Крона (БК). Проведена оценка концентрации в сыворотке крови иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG, IgE, антител к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) классов IgA, IgG и IgE, антител к *Candida albicans* классов IgA, IgM, IgG и IgE, антинейтрофильных цитоплазматических антител (ANCA) к миелопероксидазе (MPO), к протейназе 3 (PR3), антиядерных антител (ANA), антител к DNAs, DNAss (к двуспиральной и одноцепочечной ДНК), антител к антигенам тонкого и толстого кишечника, поджелудочной железы, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). У 47(75,8%) из 62 пациентов с БК диагностирована гипериммуноглобулинемия. У большого числа (29, или 46,8%) пациентов выявлен повышенный уровень IgM в крови. Гипериммуноглобулинемия E зафиксирована у 19(30,6%) из 62 детей. Гипоиммуноглобулинемия отмечена у 22(35,5%) пациентов, из них у 17(77,3%) выявлена дисиммуноглобулинемия IV типа (изолированное снижение концентрации IgA).

Оценка частоты встречаемости специфических антител в сыворотке крови показала, что наиболее часто (в 70,9%) у пациентов отмечается наличие специфических IgE к *Saccharomyces cerevisiae*. У 22(35,5%) пациентов выявлен повышенный уровень ASCA (IgA, IgG). Концентрация антител к DNAs, DNAss в крови превышала норму у 4,8 и 16,1% пациентов соответственно. Повышенный уровень ЦИК выявлен у 20(32,3%) больных. Концентрация ANA у всех 62(100%) пациентов соответствовала норме.

При оценке результатов корреляционного анализа обращают на себя внимание сильная положительная корреляция концентраций в крови антител к антигенам тонкого и толстого кишечника; средней степени положительная корреляция уровня антител к антигенам тонкого кишечника и IgM, ANCA PR3, ASCA IgE, антител к *Candida albicans* классов IgM, IgG, IgE, антител к антигенам поджелудочной железы; средняя степень положительной корреляции между концентрациями антител к антигенам толстого кишечника и IgA, IgM, ЦИК, ANCA PR3, DNAss, ASCA IgE, антителами к антигенам поджелудочной железы; сильная положительная корреляционная связь между концентрациями IgA к *Candida albicans* и ANA. Обнаружение аутоантител к *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, ANCA, антигенам тонкого и толстого кишечника, поджелудочной железы и выраженная степень корреляции многих показателей аутоиммунного реагирования указывают на интенсивность иммунопатологического процесса при БК. Появление антител к ASCA при БК является прогностически неблагоприятным признаком. Иммунологическая диагностика при БК необходима для оценки тяжести течения заболевания, дифференциальной диагностики, определения прогноза и подбора индивидуальной иммунокорректирующей терапии.

Ключевые слова: болезнь Крона; аутоиммунная реакция; иммуноглобулин; аутоантитела; дети.

Для цитирования: Гурина О.П., Степанова А.А., Дементьева Е.А., Блинов А.Е., Варламова О.Н., Блинов Г.А. Особенности аутоиммунных реакций при болезни Крона у детей. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(1): 44-50

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821.0869-2084-2018-63-1-44-50>