

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МЕТОДА ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОРМЫ, СТАДИИ И ДАВНОСТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ ВИРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE ELISA METHOD TO DETERMINE THE SHAPE, STAGES AND HERPES SIMPLEX VIRUS INFECTION

Ю. А. Костина, Е. Е. Тарасова

J. Kostina, E. Tarasova

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,

г. Минск, Республика Беларусь

juliakostina19961226@gmail.com

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

В результате проведенного анализа данных обследования сывороток крови пациенток РНПЦ «Мать и Дитя» на IgM и IgG к вирусу простого герпеса (далее – ВПГ) с помощью иммунологических тест-систем была доказана возможность определения формы заболевания на основе качественного определения концентрации антител класса IgM и количественного обнаружения антител класса IgG, а также возможность определения давности заражения ВПГ на основании количественного определения антител класса IgG к ВПГ и распределения титров иммуноглобулинов по диапазонам концентраций, указывающим на ту или иную стадию формирования иммунного ответа.

As a result of the data examination analysis of the blood serum of patients of the RPRC «Mother and Child» for IgM and IgG to herpes simplex virus (HSV) using immunological test systems, the possibility of determining the form of the disease on the basis of a qualitative determination of the concentration of antibodies of the IgM class and quantitative detection of antibodies was proved IgG class, as well as the possibility of determining the duration of HSV infection based on the quantitative determination of IgG antibodies to HSV and the distribution of immunoglobulin titers over concentration ranges, indicating a particular stage in the formation of the immune response.

Ключевые слова: сыворотка крови, специфические антитела IgM и IgG, вирус простого герпеса (ВПГ), специфические антигены ВПГ, иммуноферментный анализ (далее – ИФА).

Keywords: blood serum, specific antibodies IgM and IgG, herpes simplex virus (HSV), specific HSV antigens, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-222-224>

Вирус простого герпеса – скрытая латентная инфекция. Развитие герпетического заболевания у человека всегда связано с наличием достаточно грубого иммунодефицитного состояния, и чем сильнее иммунные нарушения, тем больше тяжесть заболевания. Диагностика ВПГ важна на ранних стадиях протекания заболевания. Наиболее важным биологическим свойством герпесвирусов в патогенезе заболеваний является их способность к латентному существованию. Герпесвирусы способны пожизненно персистировать в организме человека и вызывать заболевания с многообразными клиническими проявлениями: острые и хронические рецидивирующие инфекции с поражением кожных покровов и слизистых оболочек, внутренних органов, центральной нервной системы; трансплацентарные инфекции с поражением плода; лимфопролиферативные заболевания [3].

Резервуаром инфекции является инфицированный человек, у которого вирус содержится в различных биологических жидкостях: слезной жидкости, слюне, грудном молоке, в крови, внутренних органах, моче, влагалищном секрете, сперме. Внутриутробное заражение плода (врожденная инфекция) происходит при внедрении вируса в плаценту, плодные оболочки, кожные покровы плода, дыхательные пути, слизистую пищеварительного тракта [1].

Инфекционный процесс может протекать либо в острой (короткий инкубационный период с последующим развитием характерных симптомов), либо в бессимптомной форме. Второй тип взаимодействия обусловлен длительной персистенцией вируса в организме и проявляется тремя основными формами инфекции: латентной (бессимптомная персистенция возбудителя, при которой нарушается полный цикл репродукции вируса и он находится в клетках хозяина в виде субвирусных структур), либо хронической (персистенция вируса манифестируется клинической симптоматикой заболевания в течение длительного времени). Возможно развитие медленной вирусной инфекции, которая характеризуется длительным (месяцы и годы) инкубационным периодом с последующим медленным прогредиентным течением, с развитием тяжелых клинических симптомов [3].

Для диагностики герпесвирусной инфекции используются лабораторные методы, такие как: ПЦР, ИФА, РИФ, вирусологический метод. Из серологических методов наиболее часто применяют иммуноферментный анализ для выявления специфических антител. Учет стадии герпетической инфекции возможен по классам IgM, IgG. Обнаружение IgM служит признаком первичного инфицирования или обострения латентно протекающей инфекции, а IgG характеризует разгар заболевания и формирование иммунитета [2].

Вirus герпеса представляет собой серьезную медико-социальную проблему, поэтому, исходя из вышеперечисленного, целью работы явилось экспериментальное подтверждение актуальности и важности проведения ИФА с определением антител класса IgM и IgG к вирусу простого герпеса на основе аналитического обзора анализов образцов сыворотки крови пациентов из РНПЦ «Мать и Дитя».

В непрямом твердофазном варианте ИФА при внесении в лунки планшета образцов исследуемых сывороток, антитела, специфические к вирусу простого герпеса, в случае их наличия, связываются с поверхностным антигеном, сорбированным на твердой фазе, образуя иммунные комплексы «антиген-антитело». Образовавшиеся комплексы выявляют при помощи иммуноферментных конъюгатов анти-IgG или анти-IgM. После отмывания несвязанных компонентов комплекс «антиген-антитело класса M/G - конъюгат» выявляют, добавляя в лунки планшета раствор субстрата пероксидазы (перекись водорода) и хромогена. При этом в лунках, содержащих специфические антитела класса M/G к вирусу простого герпеса, происходит изменение окраски раствора. В лунках, не содержащих заданные специфические антитела, изменение окраски раствора не произойдет. Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент (0,9 М раствор серной кислоты). Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на спектрофотометре как величину оптической плотности (далее – ОП), при длине волны 450 нм. Величина ОП прямо пропорциональна концентрации специфических антител, содержащихся в образце сыворотки (плазмы) крови человека. Чем выше содержание специфических антител к вирусу герпеса в образце, тем выше интенсивность окрашивания раствора [2].

Для обнаружения антител к вирусу простого герпеса методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа были получены сыворотки крови от пациенток, находящихся в отделении терапии РНПЦ «Мать и Дитя» и проанализированы с использованием иммунологических наборов. Наборы предназначены для качественного и полуклического определения антител классов IgM и IgG к вирусу герпеса в сыворотке или плазме крови человека методом иммуноферментного анализа. Количество полученных сывороток - 800. Возраст пациенток от 19 до 45 лет.

Выявление антител класса IgM указывает на активный инфекционный процесс, фаза реконвалесценции устанавливается при тестировании антител класса IgG, однако в результате развивающийся иммуносупрессии, что часто наблюдается при длительной персистенции возбудителя, антитела классов IgM и IgG могут отсутствовать или определяться в невысоких титрах. Этот факт снижает значимость серологической диагностики герпесвирусной инфекции. Для наибольшей информативности дополнительно рекомендуется применять ИФА при исследовании парных сывороток, содержащих IgG, с интервалом между взятием материала 7-10 дней, для установления факта нарастания антител класса IgG в 4 раза, что может также служить указанием на течение первичной инфекции. Для подтверждения хронической формы инфекции может быть использован иммуноферментный метод определения авидности антител класса IgG [2].

Из 800 образцов сыворотки крови, проанализированных с помощью ИФА тест-систем, 176 образцов (22%) показали отрицательный ответ на IgM и IgG, что указывает на серонегативный результат.

624 образца дали различное соотношение положительных результатов на IgM и IgG. В соответствии с этим, все полученные результаты были разделены на 3 группы:

- 4 образца (1%) дали положительный результат на IgM и отрицательный на IgG (группа 1);
- 20 образцов (3%) дали положительный результат на IgM и положительный на IgG (группа 2);
- 600 образцов (96%) показали отрицательный результат на наличие IgM и положительный на IgG (группа 3).

Первую группу составляют данные анализов пациентов с положительными результатами концентраций IgM, и отрицательными результатами на IgG. Это указывает на начало развития первичной инфекции, или на острый период первичной инфекции. В случае ранней герпетической инфекции (4-6 день заболевания) результат может быть отрицательным. При наличии клинических проявлений рекомендуется провести повторное тестирование через 10-14 дней.

Вторую группу составляют данные анализов пациентов с положительными или сомнительными результатами концентраций IgM, и положительными результатами на IgG. Полученные данные указывают на развитие вторичного иммунного ответа первичной инфекции, то есть на острую фазу первичной инфекции или на обострение хронического течения герпетической инфекции.

Третью группу составили анализы пациентов с отрицательными результатами концентраций IgM, и положительными результатами на IgG, что указывает на хроническое носительство герпетической инфекции и развитие постоянного иммунного ответа к ВПГ 1-2 типов, или на недавно прошедшую первичную острую инфекцию (IgM уже исчезли).

В зависимости от величины полученных титров антител IgG, данные пациентов из третьей группы были разделены на дополнительные 4 группы, что позволило определить степень инфицированности и тяжесть инфекционного процесса (таблица 1).

Таблица 1 – Концентрация титров антител и степень инфекционного процесса

П/п	IgG, ДЕ (диагностические единицы)	Результат
1	10-61	Первичное инфицирование (не более 2-4 недель) или выздоровление после лечения
2	61-121	Давность инфицирования не более года назад
3	121-200	Латентный хронический процесс
4	>200	Латентный хронический процесс с персистенцией инфекции в организме

Референтные значения титров антител IgG приведены в таблице 2.

Из 624 пациенток - 333 имели титры антител IgG от 10 до 61 ДЕ (55,5%), 232 пациентки – от 61 до 121 ДЕ (38,7%), 34 пациентки – от 121 до 200 ДЕ (5,6%), и только одна пациентка имел значение больше 200 ДЕ (0,2%).

Таблица 2 – Референтные значения титров антител IgG к ВПГ

П/п	IgG, ДЕ (диагностические единицы)	Результат
1	>10	Положительный
2	9-10	Сомнительный
3	<9	Отрицательный

Полученные данные свидетельствуют о том, что половина пациенток с положительными значениями титров антител IgG находились на стадии ранней инфицированности либо выздоровления, 38,7% пациенток находились в периоде позднего заражения (более, чем полгода назад), у 5,6% пациенток наблюдался латентный хронический процесс, указывающий на то, что заражение произошло давно, и у 0,2% пациенток - латентный хронический процесс с персистенцией инфекции в организме, заражение произошло давно, возможно, еще в детстве или в период внутриутробного развития.

Таким образом, при диагностике вируса простого герпеса методом ИФА можно определить не только наличие определенного класса антител к вирусу простого герпеса и их количество, но и стадию инфекционного процесса, которая играет большую роль при выборе схемы лечения больного.

Рассмотрев особенности способов диагностики и интерпретации результатов следует заметить, что в силу вариабельности определяемых параметров и неоднозначности их трактовки, при постановке диагноза лучше использовать совокупность лабораторных методов для получения большей информативности.

По данным проведенных исследований можно сделать вывод, что наиболее перспективным, более чувствительным и специфическим методом диагностики вируса простого герпеса из всех серологических реакций в настоящее время считается иммуноферментный анализ, который внедрен в работу многих медицинских центров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Herpes simplex virus drug-resistance: new mutations and insights / G. Andrei, R. Snoeck // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 26, No 6. – P. 551.
2. Жабентяев, А. И., Каткова, Е. И. Иммуноферментный метод анализа // *Вестник фармации.* – 2013. – № 2. – С. 90-91.
3. Исаков, В.А., Архипова, Е. И., Исаков, Д. В. Герпесвирусные инфекции человека (2-е изд., перераб., доп.): Руководство для врачей / Под редакцией профессора Исакова В.А. . – СПб.: СпецЛит. 2013. — С. 670-672.

РОЛЬ ГЕНОВ *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1* В УВЕЛИЧЕНИИ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ – ЭТНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

ROLE OF *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1* GENES IN INCREASING THE PROBABILITY OF BREAST CANCER DEVELOPMENT – ETHNIC FEATURES

**В. А. Курносова¹, В. Н. Кипень², Ж. Т. Исакова³, К. А. Айтбаев³, М. А. Юсуфова⁴,
Д. В. Винников^{1,5}, Н. М. Букуев⁶, Б. Б. Султангазиева⁶, Н. М. Алдашева^{3,5}
V. A. Kurnosova¹, V. N. Kipen², Zh. T. Isakova³, K. A. Aitbaev³, M. A. Usufova⁴,
D. V. Vinnikov^{1,5}, N. M. Bykyev⁶, B. B. Sultangazieva⁶, B. B. Aldasheva^{3,5}**

¹Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

²Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси,
г.Минск, Республика Беларусь

³НИИ молекулярной биологии и медицины, г.Бишкек, Кыргызская Республика

⁴Кыргызско-Российский Славянский Университет, г.Бишкек, Кыргызская Республика

⁵Казахский национальный университет имени Аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

⁶Национальный центр онкологии и гематологии, г.Бишкек, Кыргызская Республика

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

³Research Institute of Molecular Biology and Medicine, Bishkek, Kyrgyz Republic

⁴Kyrgyz-Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyz Republic

⁵Al-Farabi Kazakh National University, School of Public Health, Almaty, Kazakhstan

⁶National Center of Oncology and Hematology, Bishkek, Kyrgyz Republic

Представлены результаты анализа распространенности полиморфизма генов II фазы биотрансформации ксенобиотиков *GSTP1* (rs1695), *GSTM1* (null), *GSTT1* (null) у 80 женщин из Кыргызстана, (из которых 40 – с диагнозом РМЖ, 40 – без онкопатологии в анамнезе), и у 100 женщин из Беларуси (50 – с диагнозом РМЖ,