

# ИФА - Диагностика

Иммуноферментный анализ (ИФА) — метод лабораторной диагностики, позволяющий обнаруживать специфические антитела и антигены при самых разных патологиях.

ИФА — один из самых распространенных и точных методов для выявления инфекций, передающихся половым путем, в частности ВИЧ, ВПЧ, гепатита В.

Для того чтобы результаты анализов были максимально достоверными, необходимо правильно подготовиться к их сдаче.

Контроль качества лабораторных исследований, осуществляемый по международным стандартам, — дополнительная гарантия точности результатов анализов.

## Основные понятия и принцип метода иммуноферментного анализа

Иммуноферментный анализ (ИФА) — это метод лабораторной диагностики, основанный на реакции «антиген-антитело», который позволяет выявить вещества белковой природы (в том числе ферменты, вирусы, фрагменты бактерий и другие компоненты биологических жидкостей).

Чтобы понять, как устроен иммуноферментный анализ, попробуем разобраться в сути реакции «антиген-антитело». Антиген — это чужеродная для организма молекула, как правило, белкового происхождения, которая может попасть в тело человека вместе с инфекционным агентом. Частицы чужой крови (если она не совпадает с нашей по группе) также являются антигенами. В организме антигены способны вызывать иммунную реакцию, направленную на защиту целостности внутренней среды от чужеродных веществ. Поэтому наше тело синтезирует особые вещества — антитела (иммуноглобулины), способные по принципу «ключ к замку» соединяться с антигенами, связывая их в иммунный комплекс (этот процесс как раз называется реакцией «антиген-антитело»). Такие иммунные комплексы легче распознаются и уничтожаются клетками иммунитета.

Существует несколько разновидностей антител, каждая из которых вступает в действие на определенном этапе иммунного ответа. Так, первыми в ответ на проникновение антигена в организм синтезируются иммуноглобулины класса М (IgM). Содержание этих антител наиболее высоко в первые дни инфекционного процесса.

Следом за ними иммунная система выбрасывает в кровь иммуноглобулины класса G (IgG), которые помогают уничтожить антигены до полной победы над инфекцией, а также продолжают циркулировать по сосудам в дальнейшем, обеспечивая иммунитет к повторному заражению. На этом явлении основана вакцинация: благодаря прививкам, содержащим

ослабленные антигены микробов и вирусов, в нашей крови появляется большое количество IgG, которые при контакте с реальной угрозой быстро подавляют инфекцию — до того, как она нанесет вред здоровью.

Также существуют иммуноглобулины класса А (они в большом количестве содержатся в слизистых оболочках, защищая «подступы» к организму), Е (борются с паразитарными инфекциями) и другие. В лабораторной диагностике объектами интереса чаще всего являются IgM, IgG и IgA: по их концентрации можно оценить, на какой стадии находится инфекционный процесс, а также узнать, болел ли когда-либо человек тем или иным недугом (например, краснухой или ветряной оспой).

Как узнать, какие именно антигены или антитела присутствуют в организме человека? Когда врач предполагает, что причиной заболевания является определенная инфекция, или желает измерить концентрацию определенного гормона, он назначает пациенту иммуноферментный анализ.

Реакцию «антиген-антитело» можно воспроизвести в лабораторных условиях: использовать уже готовые антитела или антигены, чтобы определить, есть ли в исследуемом образце соответствующее им соединение.

Для начала необходимо получить образец биологической жидкости — обычно, это сыворотка крови. Лаборатория использует пластиковые планшеты с лунками, в которых уже содержатся очищенные антигены предполагаемого возбудителя (или — антитела, в случае если задачей является поиск антигена). Образцы вносятся в лунки, где происходит — или не происходит — образование иммунных комплексов. Если «встреча» состоялась, особое красящее вещество вступает в ферментную реакцию с объединенной молекулой, что позволяет с помощью инструментальной оценки оптической плотности сделать вывод о результатах анализа.

ИФА бывает качественным и количественным. В первом случае подразумевается однозначный ответ: искомое вещество или найдено, или не найдено в образце. В случае с количественным анализом более сложная цепь реакций дает возможность оценить концентрацию антител в крови человека, что в сравнении с результатами предыдущих тестов даст ответ на вопрос о том, как развивается инфекционный процесс.

### ***Это интересно***

*Предшественником иммуноферментного анализа был радиоиммунный анализ, в котором для идентификации успешной реакции использовались меченые антитела и антигены. Поскольку проведение такой диагностики представляло потенциальную угрозу для здоровья сотрудников лаборатории, ученые озаботились поиском безопасной альтернативы по «окраске» образцов. Так в 1971 году был изобретен ИФА.*

## **Преимущества метода**

Бесспорные преимущества ИФА — высокая чувствительность и специфичность метода. Чувствительность — это возможность распознать искомое вещество, даже если его концентрация в образце невысока. Специфичность же подразумевает безошибочность

диагностики: если результат положительный, значит, найдены именно те антитело или антиген, которые предполагались, а не какие-то другие.

ИФА во многом заменил «золотой стандарт» микробиологии — бактериологический метод диагностики, в ходе которого для идентификации возбудителя требовалось выделить его из организма, а затем в течение нескольких дней выращивать культуру на питательной среде в пробирке. Все то время, пока производился анализ, врачи были вынуждены лечить пациента «вслепую», догадываясь о происхождении микроорганизма по симптомам болезни.

Определение IgM с помощью ИФА позволяет поставить точный диагноз уже в первые дни болезни.

Высокая степень технологичности проведения иммуноферментного анализа минимизирует влияние человеческого фактора, что снижает вероятность ошибки. Большинство используемых в современных лабораториях тест-систем и реактивов для ИФА выпускаются в промышленных условиях, что гарантирует точный результат.

### **Недостатки метода**

К сожалению, для проведения ИФА нужно знать, что именно искать: методика анализа подразумевает, что врач заранее имеет предположение о природе заболевания. Поэтому нет смысла назначать такой тест в надежде случайно «угадать» диагноз.

В случае диагностики инфекционных заболеваний иммуноферментный анализ не может найти возбудителя и определить его специфичные свойства: он лишь указывает на наличие антител в крови у больного, косвенно свидетельствующих о присутствии чужеродного микроорганизма в теле человека.

ИФА — крайне точный, но не дешевый метод, поэтому обращаться к нему нужно с умом, а интерпретацией результатов должен заниматься квалифицированный врач.

### **Показания к назначению и выявляемые заболевания**

Невозможно охватить полный список показаний к проведению ИФА. Вот наиболее распространенные цели анализа:

1. Диагностика острых и хронических инфекционных заболеваний:
  - IgM и IgG к вирусным гепатитам А, В, С, Е, а также антигенов гепатитов В и С;
  - IgG к ВИЧ;
  - Ig M и IgG к цитомегаловирусной инфекции;
  - Ig M и IgG к вирусу Эпштейна-Барр;
  - Ig M и IgG к герпетическим инфекциям;
  - Ig M и IgG к токсоплазмозу;
  - Ig M и IgG к кори, краснухе, сальмонеллезу, дизентерии, клещевому энцефалиту и другим заболеваниям;
  - IgG к паразитарным заболеваниям;
  - Ig M и IgG к инфекциям, передающимся половым путем;
  - IgG к хеликобактерной инфекции.
2. Общая оценка показателей иммунитета человека и маркёров некоторых

- аутоиммунных заболеваний.
3. Выявление онкологических маркёров (фактора некроза опухоли, простатспецифического антигена, раково-эмбрионального антигена и других).
  4. Определение содержания гормонов в сыворотке крови (прогестерона, пролактина, тестостерона, тиреотропного гормона и других).

## **Анализируемый биоматериал и особенности его забора**

Основной биоматериал для проведения ИФА — это сыворотка крови: в лаборатории у пациента берут образец крови из вены, из которого в дальнейшем удаляют форменные элементы, затрудняющие проведение анализа. В некоторых других случаях для анализа используется спинномозговая жидкость, околоплодные воды, мазки слизистых оболочек и т.д.

Для того чтобы избежать искажений в результатах, рекомендуется сдавать кровь натощак, а за две недели до исследования (если целью является диагностика хронических, скрыто протекающих инфекционных заболеваний) необходимо отказаться от приема антибиотиков и противовирусных препаратов.

## **Сроки готовности результатов ИФА**

При наличии необходимых реактивов и хорошей организации работы лаборатории результат анализа вы получите в течение 1–2 суток после забора крови. В некоторых случаях, при необходимости получения экстренного ответа, этот срок может быть сокращен до 2–3 часов.

## **Расшифровка иммуноферментного анализа**

Результатом качественного ИФА будет однозначный вердикт: искомое вещество либо найдено, либо не найдено в образце. Если же речь о количественном анализе, то концентрация может выражаться числовым значением или определенным количеством знаков «+» (от одного до нескольких).

### ***Анализируемые показатели***

- *IgM* — наличие этого класса иммуноглобулинов говорит об остром инфекционном процессе в организме. Отсутствие *IgM* может говорить как об отсутствии конкретного возбудителя в организме, так и о переходе инфекции в хроническую стадию.
- *IgA* при отрицательном результате теста на *IgM* чаще всего свидетельствует о хронической или скрыто протекающей инфекции.
- *IgM* и *IgA* (*совместное присутствие*) — два положительных результата говорят о разгаре острой фазы заболевания.
- *IgG* говорит либо о хронизации заболевания либо о выздоровлении и выработке иммунитета к инфекционному агенту.

### ***Возможные результаты ИФА***

В зависимости от содержания анализа в бланке могут быть представлены данные в виде таблицы с перечислением всех антител или антигенов с пометками об отрицательной или положительной реакции, либо будет указано количественное значение результата

(отрицательный, слабоположительный, положительный или резко положительный). Последний вариант определяет, сколько антител содержится в анализируемом образце.

Еще один количественный показатель — индекс avidности антител, выраженный в процентах. Он указывает, сколько времени прошло от начала инфекционного процесса (чем выше индекс — тем больше).

*Сегодня выпускаются тысячи видов тест-систем ИФА, позволяющих обнаруживать специфические антитела и антигены при самых разных патологиях. Поэтому этот анализ используется практически во всех медицинских отраслях. Диагноз, поставленный с помощью ИФА, — это гарантия назначения адекватной терапии и эффективного лечения заболевания.*