

Современные молекулярные технологии лабораторной диагностики

Э.Р. Янбухтина, педиатр, дерматовенеролог, ООО «Лаборатория Гемотест»

Е.Ю. Сухарева, биохимик, ООО «Лаборатория Гемотест»

А.М. Тазетдинов, к.б.н., ООО «Лаборатория Гемотест»

Внедрение новейших молекулярных технологий лабораторной диагностики в клиническую практику открыло невиданные ранее горизонты во многих областях медицины, в частности, в области определения и выявления причин аллергии, воспалительных реакций, аутоиммунных и системных заболеваний, инфекций, передаваемых половым путем, вирусных гепатитов, а также в определении генетического риска развития многих наследственных болезней. Высокий уровень автоматизации, производительности, точности, достоверности, надежности, чувствительности проводимых исследований проливает свет не только на молекулярные основы, лежащие в основе патогенеза заболевания, но и на новые возможности их идентификации, оценки риска развития, возникновения, профилактики, выявления и лечения.

Необходимым условием развития лабораторного обеспечения специализированной и качественной медицинской помощи населению помимо стандартизации лабораторных исследований, является применение соответствующих высокотехнологичных методов диагностики, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью в соответствии с современным уровнем научно-технического прогресса. К числу таких известных и распространенных методов диагностики относятся: микроскопическое и бактериологическое исследования, иммуноферментный анализ (ИФА), иммуно-хемилюминесцентный анализ (ИХЛА), полимеразная цепная реакция (ПЦР) и секвенирование. В настоящее время молекулярно-генетические анализы, основанные на современных методах - ПЦР, секвенирование, являются неотъемлемой частью диагностики и выбора лечения, востребованы в фармакогенетике, спортивной и судебной медицине. Пирозеквенирование, позволяющее с высокой производительностью и точностью осуществлять прочтение нуклеотидной последовательности, проводить идентификацию вирусов, бактерий, грибов, выявить их мутации и резистентность к антимикробным препаратам, может с успехом применяться при расшифровке абсолютно неизвестных последовательностей ДНК и скрининге клинически значимых полиморфизмов и мутаций (однонуклеотидные полиморфизмы – SNP, SNV, CNV). Принцип метода основан на регистрации фотоумножителем или цифровой камерой биолюминесценции при окислении люциферина люциферазой, которое запускается АТФ, образующегося из пирозеквенирования в присутствии сульфурилазы и аденозинфосфосульфата. Существенной особенностью современной технологии пирозеквенирования является использование эмульсионной ПЦР для одновременной параллельной подготовки сотен тысяч препаратов ДНК, наличие специальных проточных камер с сотней тысяч микролунок, заполняемых шариками с образцами анализируемой ДНК и микрошариками с иммобилизованными ферментами, высокочувствительной цифровой фотокамеры и специализированного программного обеспечения. Дизайн праймеров для амплификации и секвенирования интересующих генетических локусов при подготовке образца открывает необычайно широкие возможности для изучения практически любого интересующего участка генома, идентификации мутации в соответствующих хромосомных регионах, разработки неограниченного количества новых диагностических комплексов по выявлению патогенных микроорганизмов, потенциального риска возникновения и развития инфекционных, моногенных, мультифакториальных заболеваний, их диагностики на начальных стадиях развития и прогноза течения, оценки эффективности и индивидуальной переносимости лекарственных препаратов. Поскольку наследственные факторы играют важную роль в возникновении многих хронических болезней человека в настоящее время разработаны соот-

ветствующие тест системы для выявления предрасположенности пациента к сердечно-сосудистым заболеваниям, невынашиванию беременности, врожденным порокам развития плода, раку молочной железы и яичников, патологии системы свертывания крови, ожирению, остеопорозу, артериальной гипертензии, установления причин бесплодия. Успешный опыт использования современных молекулярно-генетических методов в медицинской практике, несомненно, будет основанием не только для увеличения количества генетических анализов, но и спектра проводимых исследований по выявлению наследственной предрасположенности к моногенным и мультифакториальным заболеваниям, для медико-генетической консультации, при индивидуальном подборе наиболее эффективных лекарственных средств и определении их оптимальной дозировки.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – высокоточный метод молекулярной диагностики, который позволяет выявить у человека различные инфекционные и наследственные заболевания, как в острой и хронической стадии, так и задолго до того, как заболевание может себя проявить.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в 1983 году разработал Кэри Мюллис (США), за что в 1993 году он удостоен Нобелевской премии в области химии.

ПЦР анализ стал для большинства инфекций своеобразным «золотым стандартом диагностики». Большинство специалистов сталкиваются с ним практически ежедневно и не представляют без него постановку окончательного диагноза. ПЦР нередко становится единственной реакцией для выявления активных стадий заболевания в те моменты, когда не срабатывают другие бактериологические, вирусологические, иммунологические методы диагностики.

Инфекции выявляемые с помощью ПЦР-диагностики:

- 1). ВИЧ-инфекция (можно выявить вирус иммунодефицита человека ВИЧ-1);
- 2). Вирусные гепатиты А, В, С, G (РНК-HAV, ДНК-HBV, РНК-HCV, РНК-HGV);
- 3). Инфекционный мононуклеоз (ДНК вируса Эпштейн-Барр-ВЭБ);
- 4). Цитомегаловирусная инфекция (ДНК-CMV);
- 5). Герпетическая инфекция (ДНК- вируса простого герпеса ВПГ 1 и 2 типа);
- 6). ИППП (инфекции, передающиеся половым путем) – уреоплазмоз, гарднереллез, хламидиоз, микоплазмоз, трихомониаз
- 7). Туберкулез (микобактерия туберкулеза);
- 8). Онкогенные вирусы – папилломавирусная инфекция (вирус папилломы человека, в том числе его онкогенные виды 16, 18, 31, 33, 45, 51, 52, 56, 58, и 59);
- 9). Боррелиоз, клещевой энцефалит;
- 10). Листерииоз;
- 11). Кандидоз (грибы рода Candida);
- 12). Хеликобактерная инфекция (*Helicobacter pylori*) и другие.

В настоящее время ПЦР-диагностика подвергается существенному развитию. Происходит совершенствование самого метода, вновь и вновь появляются новые разновидности ПЦР, на медицинский рынок поступают новые тест-системы на основе данной реакции.

Одним из новейших исследований является высокочувствительный ВПЧ-тест Cobas. Он является качественным тестом для выявления ВПЧ (вируса папилломы человека) высокого риска. В тесте проводится амплификация ДНК мишени методом ПЦР с детекцией в реальном времени, в процессе которой амплифицированная ДНК идентифицируется с помощью меченых флуоресцентным красителем зондов.

Как и другие тесты для выявления ВПЧ, тест Cobas позволяет выявлять все основные генотипы ВПЧ, вызывающие рак шейки матки. Основное отличие заключается в том, что тест Cobas позволяет генотипировать типы 16 и 18 отдельно. При этом используется β -глобин в качестве внутреннего контроля качества образца, что исключает перекрестную реактивность с типами ВПЧ низкого риска. Таким образом, чувствительность и специфичность теста составляют более 95%.

Тест Cobas® HPV – это 3 теста на ВПЧ высокого онкогенного риска в одном для надежного распределения по степени риска.

В одном результате выдается объединенный результат выявления ДНК 12 типов ВПЧ высокого онкогенного риска: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 и индивидуальные результаты генотипирования ВПЧ 16 и 18.

Высокочувствительный Cobas® HPV Test является диагностическим исследованием, одобренным FDA, сертифицированным в ЕС и зарегистрированным в России, и позволяет узнать детали, которые необходимы для принятия решения по тактике ведения пациентки на основании ее реальных рисков.

Тест Cobas HPV Test дает возможность для создания новых стандартов скрининга, так как:

- ✓ Значительно помогает распределению пациентов по группам риска;

- ✓ Позволяет сфокусироваться на небольшой группе пациентов, которые действительно нуждаются в немедленном лечении;
- ✓ Позволяет сообщить большинству женщин, что они находятся в группе очень низкого риска.

Развитию молекулярной аллергодиагностики способствовало открытие аллергена как сложного комплекса, в состав которого входят различные белковые молекулы.

На основе этих открытий шведская компания Phadia AB разработала систему ImmunoCAP, признанную Всемирной Организацией Здравоохранения «золотым стандартом аллергодиагностики», и на сегодняшний день используемую более чем в 100 странах мира.

Это современная тест-система in-vitro диагностики, которая позволяет обнаружить сверх низкие концентрации IgE-антител в сверх малом количестве крови пациента.

In-vitro исследования крови имеют определенные преимущества в отличие от кожных прик-тестов, которые на протяжении длительного времени являются основным уточняющим методом диагностики аллергических заболеваний:

- ✓ Безопасность для пациентов, возможность использовать в любой период заболевания, в любом возрасте;
- ✓ Нет зависимости от антигистаминных препаратов или присутствующего дермографизма, повышенной реактивности кожных покровов;
- ✓ Проведение множественных исследований с одним образцом крови;
- ✓ Новое поколение тестов является высокочувствительным и специфичным, выдающим результаты в количественном виде, характеризующим степень сенсibilизации организма данным аллергеном.

Диагностика аллергии по анализам крови – это современное направление в аллергологии, которое позволяет не только выявить причину аллергии и дифференцировать истинную и перекрестную сенсibilизацию организма, но и наблюдать эффективность проводимого лечения.

ГЕМОТЕСТ
МЕДИЦИНСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ

Современные молекулярные технологии ДИАГНОСТИКИ

- ✓ Высокая чувствительность, точность, надежность, достоверность.
- ✓ Точная диагностика – основа профилактики, выявления и эффективного лечения.



www.gemotest.ru
8 800 550 13 13

ООО «Лаборатория Гемотест», ОГРН 1027709005642

О НАЛИЧИИ ПРОТИВОПОКАЗАНИЙ НЕОБХОДИМО ПРОКОНСУЛЬТИРОВАТЬСЯ С ЛЕЧАЩИМ ВРАЧОМ