

ВЕКТОР



# Современная диагностика сифилиса

Назаренко Илья Дмитриевич  
Биотехнолог отделения ИФА сифилиса



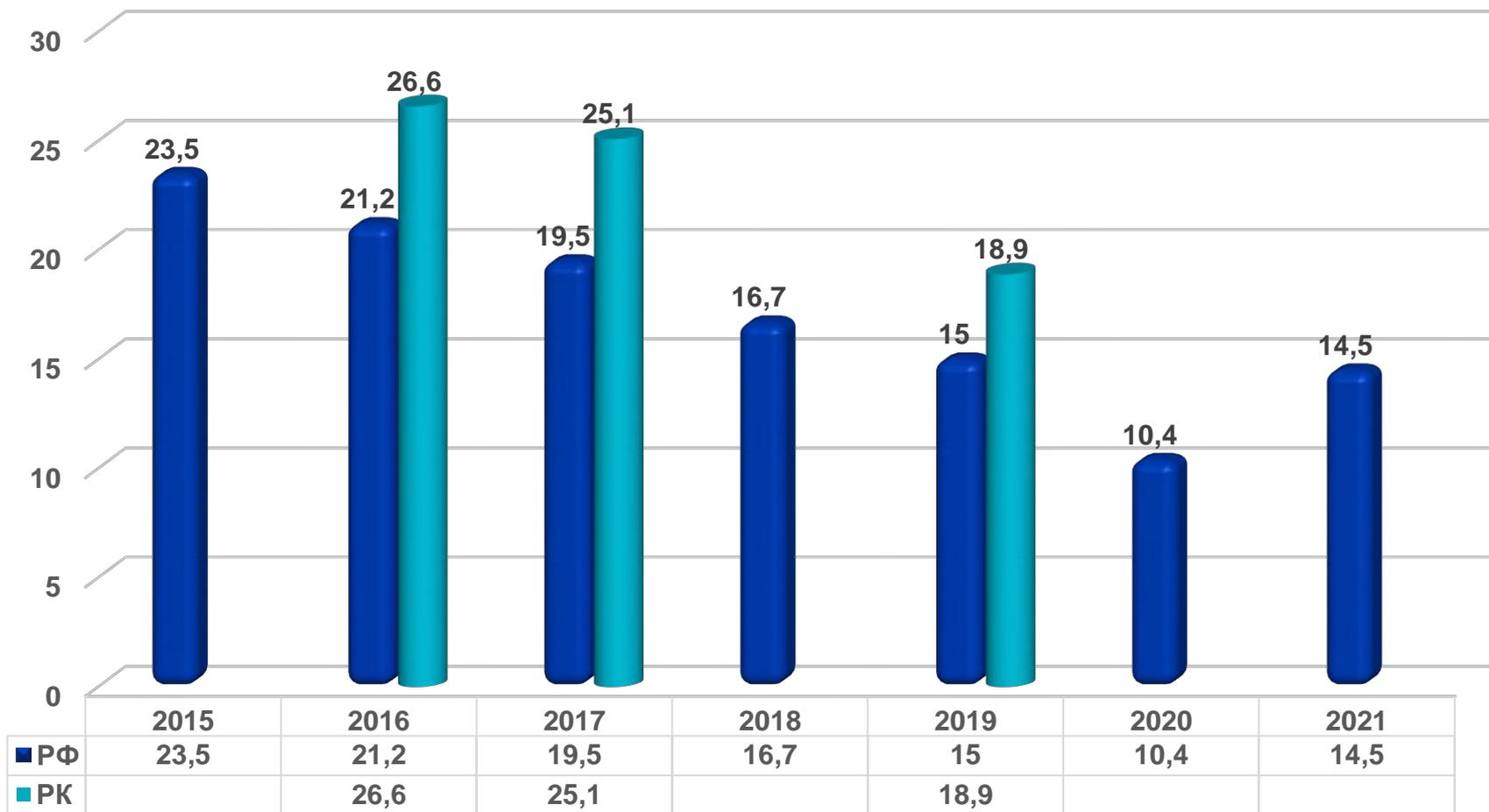
# План

- **Распространённость и структура заболевания**
- **Методы лабораторной диагностики**
- **Алгоритмы обследования**
- **Разбор клинических случаев**

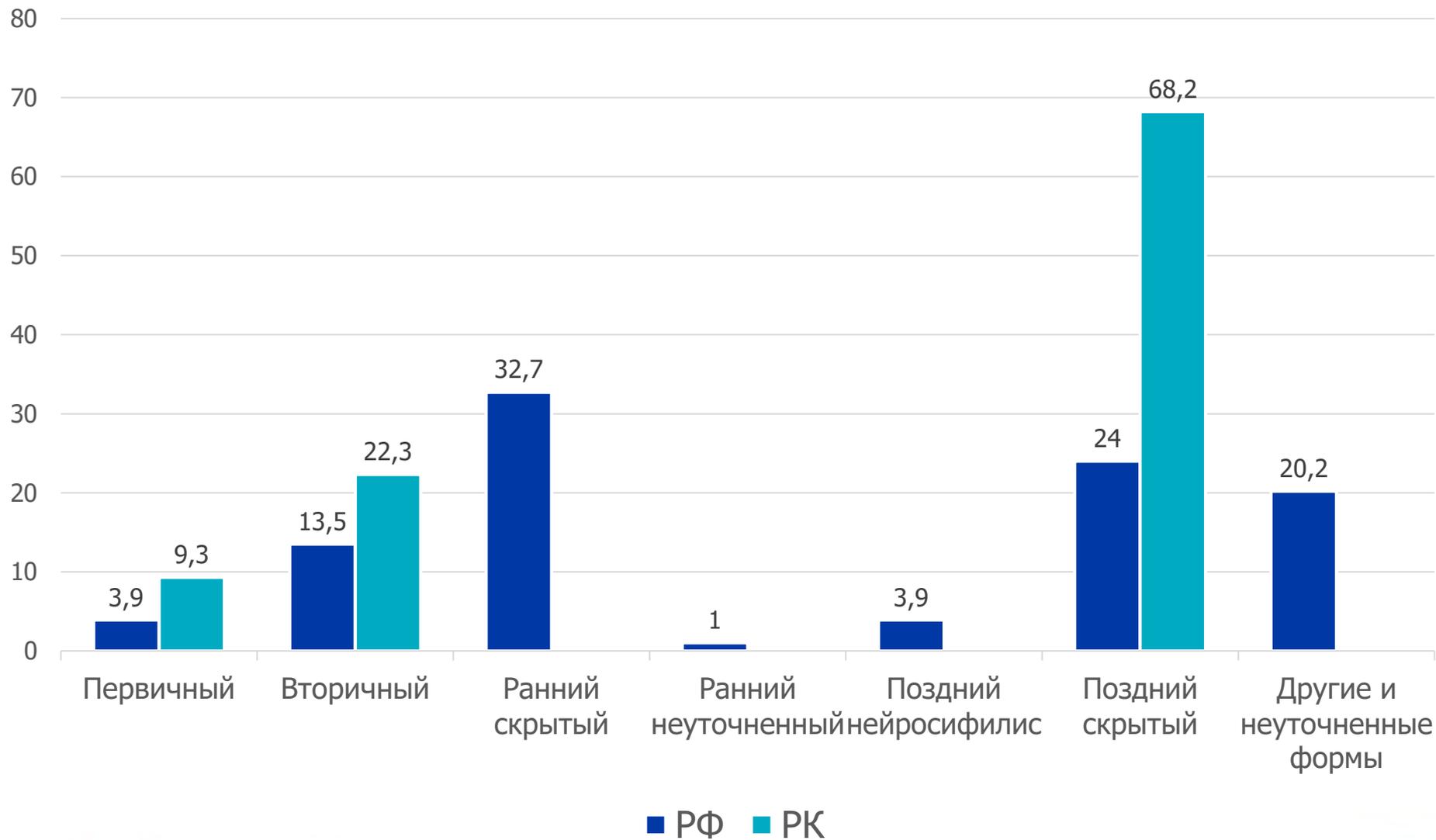


# Заболееваемость сифилисом

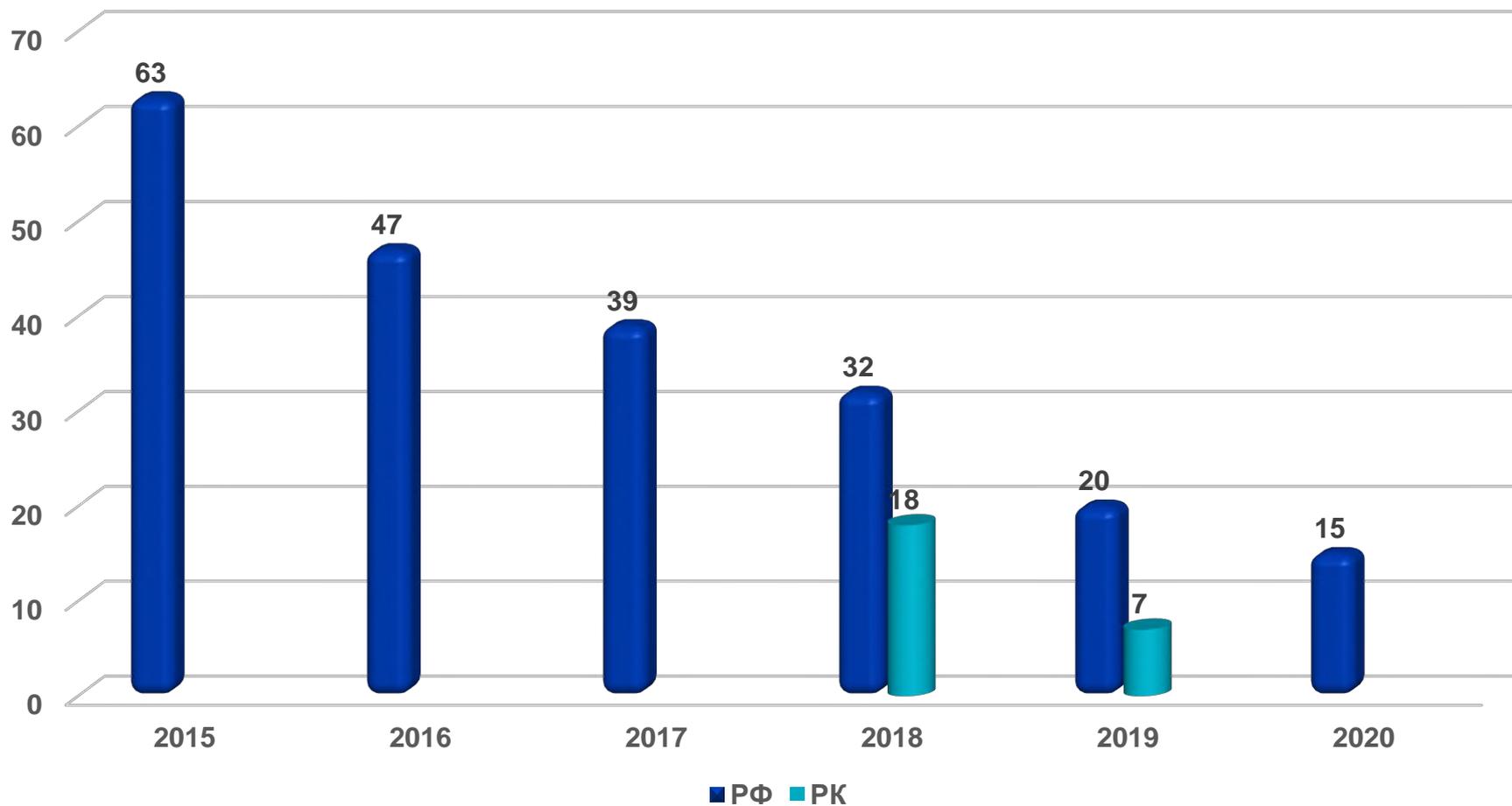
(на 100 тыс. населения)



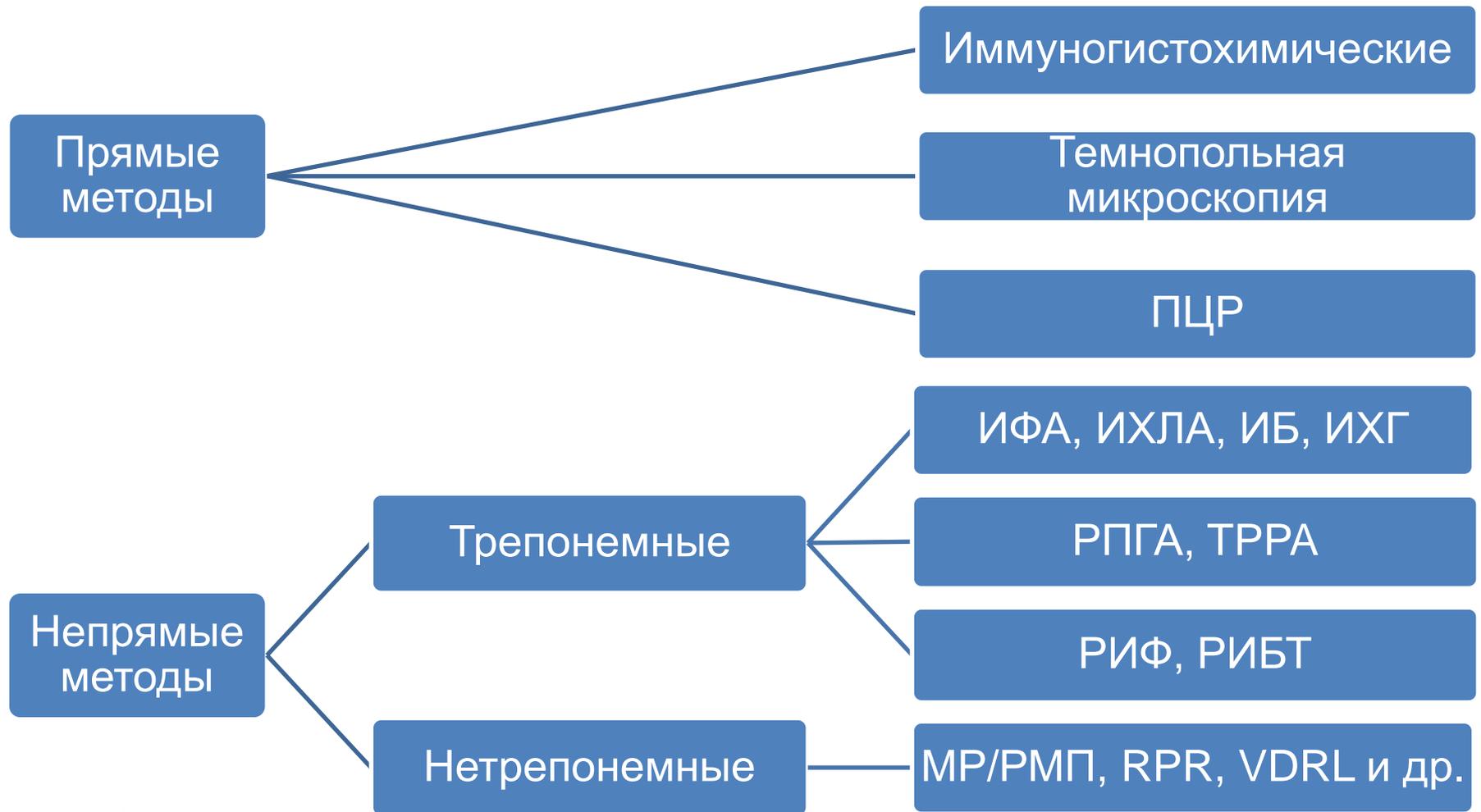
# Структура заболеваемости сифилисом %



# Заболееваемость врождённым сифилисом



# Лабораторные методы диагностики



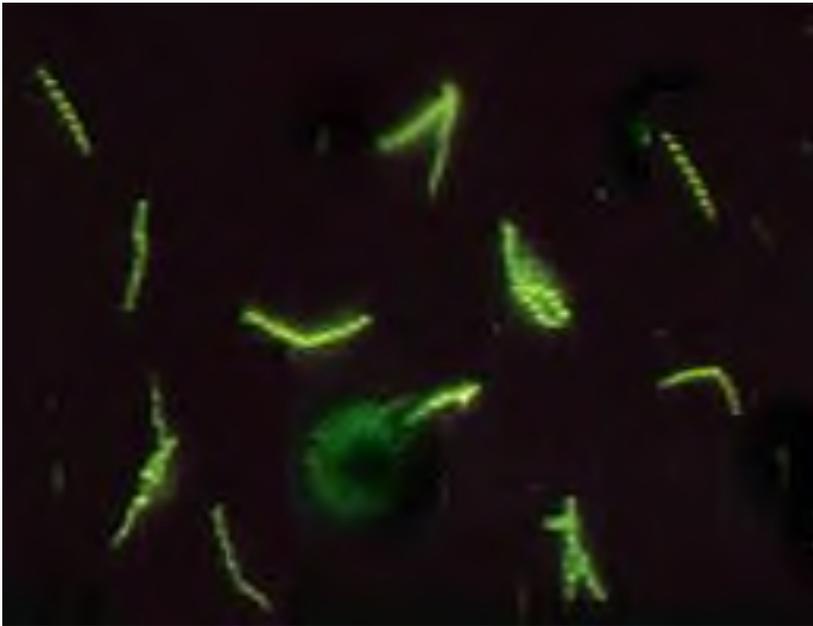
# Темнопольная микроскопия



- «+» визуализация БТ
- «-» Не позволяет дифференцировать патогенных и непатогенных БТ
- «-» Низкая чувствительность, отрицательный результат не исключает заболевание



# Прямая иммунофлюоресценция (ПИФ/ИГХ)



«+» дифференциация  
патогенных трепонем от  
непатогенных

«-» отсутствуют коммерческие  
наборы



# Полимеразная цепная реакция



«+» **Анализируемый биоматериал:** отделяемое генитальных язв, биопсийный материал кожных сифилидов, СМЖ, амниотическая жидкость, плацента, периферическая кровь и семенная жидкость.

«-» Отрицательный результат ПЦР-анализа **не исключает** наличия сифилитической инфекции.



# Нетрепонемные тесты на сифилис

MP или РМП

- Микрореакция преципитации с кардиолипидным антигеном или экспресс-метод

RPR

- Тест быстрых плазменных реагинов (Rapid Plasma Reagins)

VDRL

- Тест лаборатории по исследованию венерических заболеваний (Venereal Disease Research Laboratory)

TRUST

- Тест с окрашенным толуидиновым красным кардиолипидным антигеном и непрогретой сывороткой (TRUST)

USR

- Тест выявления реагинов непрогретой сыворотки (Unheated Serum Reagins)



# Нетрепонемные тесты на сифилис

- Основу составляет антиген нетрепонемного происхождения (кардиолипиновый антиген)
- Выявляют антитела к липидам клеточной мембраны бледной трепонемы\*
- Все НТТ основаны на наблюдении флоккуляции



# Недостатки нетрепонемных тестов

- Низкая чувствительность при первичном (70–90%) и позднем (30–50%) сифилисе
- Недостаточная специфичность (ложноположительные результаты при некоторых состояниях организма: беременность, кардиопатология, аутоиммунные заболевания, острые состояния и т.д.)
- Субъективная оценка результатов



# Трепонемные тесты на сифилис

РИБТ (ТРИ)

- Реакция иммобилизации бледных трепонем (Treponema pallidum immobilization test)

РИФ (ФТА)

- Реакция иммунофлуоресценции (Fluorescent treponemal antibody)

РПГА (ТРНА)

- Реакция пассивной гемагглютинации (Treponema pallidum haemagglutination assay)

ТРРА

- Treponema pallidum partikle agglutination assay

ИФА (ELISA)

- Иммуноферментный анализ (Enzyme Lynced Immunosorbent Assay)

ИХЛА

- Иммунохемилюминесцентный анализ

ИБ

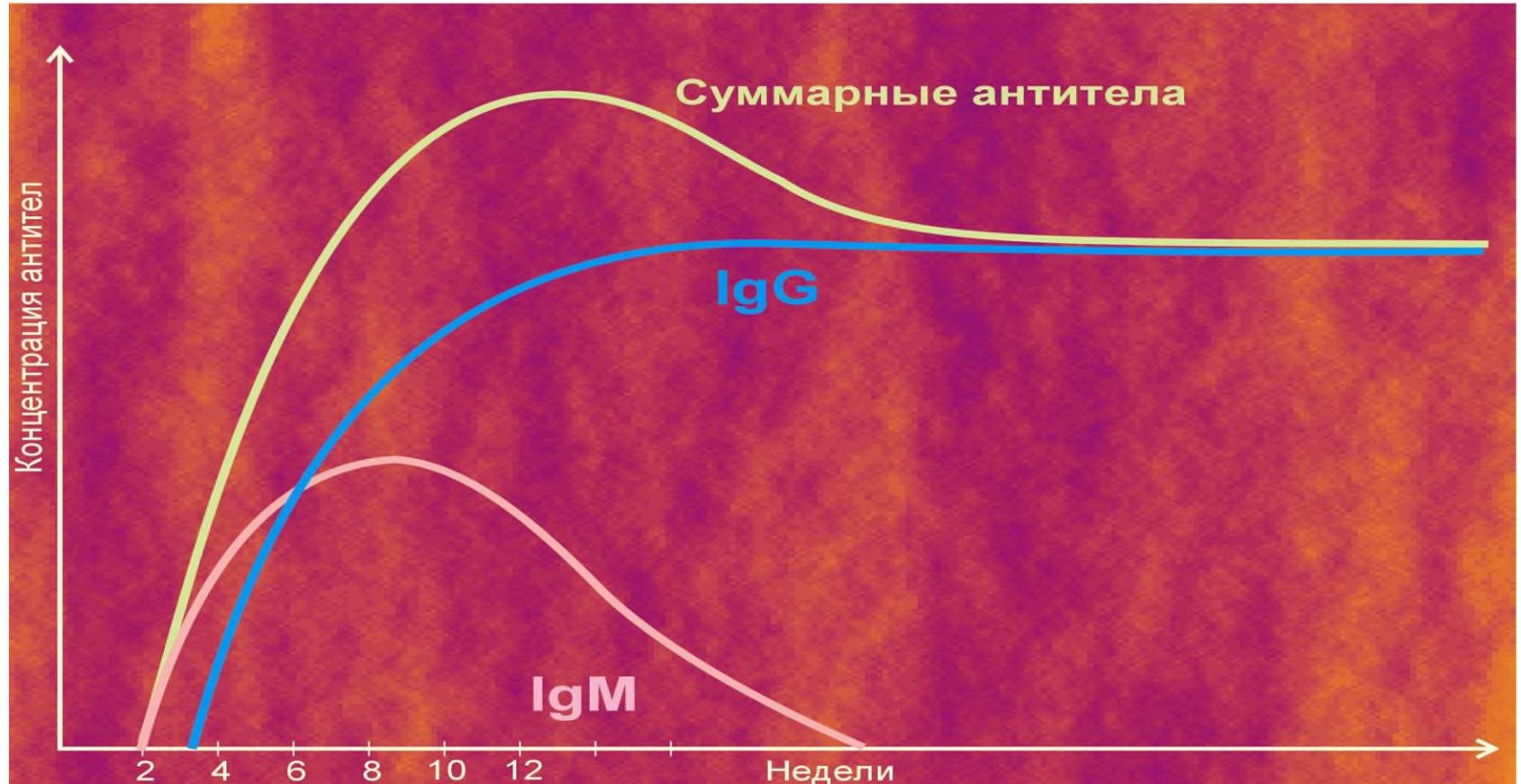
- Иммуноблоттинг

ИХГ

- Иммунохроматография



# Динамика образования антитрепонемных антител

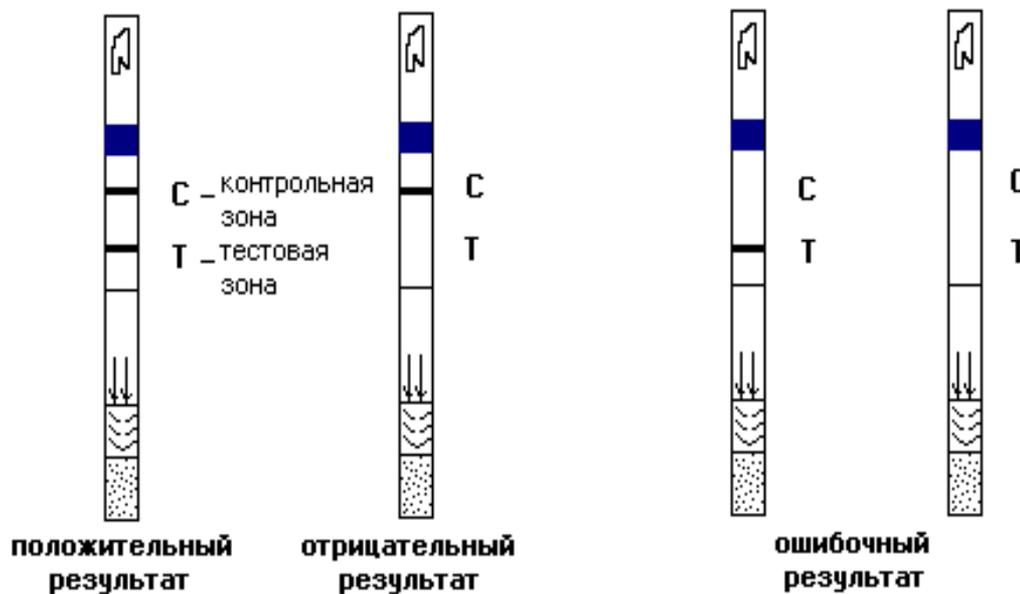


# Трепонемные тесты

- Применяется антиген трепонемного происхождения
- Определяются трепонемоспецифические антитела
- Высокая чувствительность и специфичность
- Методы - диагностические, подтверждающие
- Тесты применяются для исключения ЛПР нетрепонемных тестов



# Метод иммуноблоттинга/ИХА



# Реакция иммобилизации бледной трепонемы

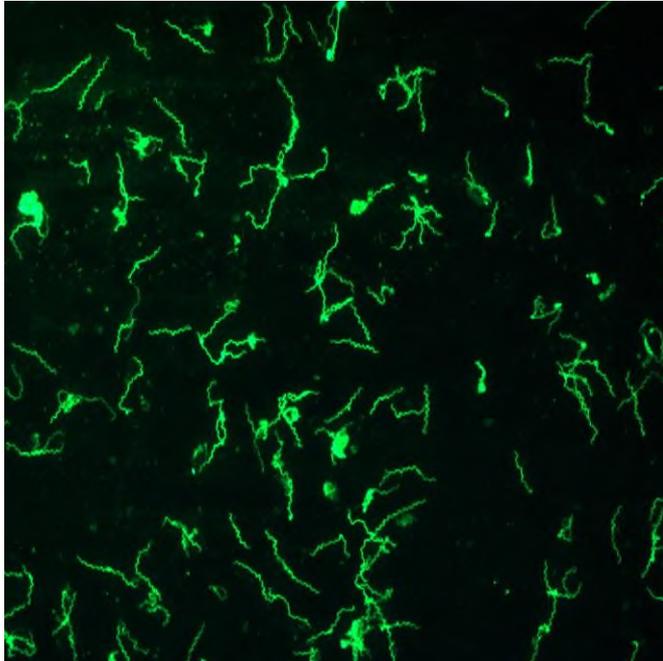
«-» Низкая чувствительность на ранних стадиях, из-за позднего появления иммобилизинов;

Может давать ЛПР (у больных аутоиммунной патологией, злокачественными новообразованиями, диабетом и т.д.);

Сложный, трудоемкий, дорогостоящий анализ, требующий высокой квалификации персонала.



# Реакция иммунофлюоресценции



Основа – взвесь патогенной бледной трепонемы штамма Никольса  
(только поверхностные антигены)

«+» РИФ<sub>абс</sub> – «золотой» стандарт

«-» Низкая производительность

«-» Учёт результатов



# РПГА

Антигены:

- очищенный лизат патогенной бледной трепонемы штамма Никольса (смесь поверхностных и внутренних антигенов)
- смесь рекомбинантных антигенов

«+» Высокая чувствительность на всех (в особенности – поздних) стадиях сифилиса

«+/-» Становится положительным позже ИФА

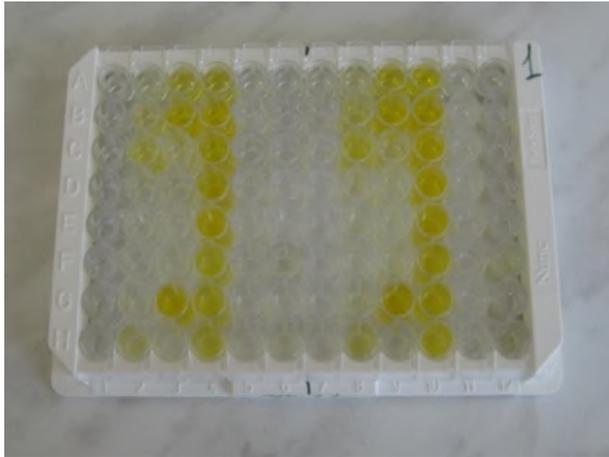
«-» Наличие собственных антигенов на поверхности эритроцитов

«-» Контроль качества

«-» Возможно долгое снижение титра



# Иммуноферментный и иммунохемилюминисцентный анализ



ИФА



ИХЛА



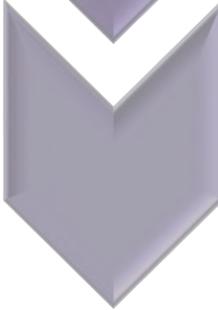
# Особенности ИФА-систем для диагностики сифилиса



- Основа – рекомбинантные антигены (или синтетические пептиды) – аналоги природных антигенов. Наиболее специфичными и высокоиммуногенными считаются рекомбинантные антигены: p15, p17, p41-44 (TprA), p47.



- Каждый производитель использует свою определённую композицию белков (в зависимости от той идеологии, которая положена в основу создания тест-системы)



- Каждая тест-система имеет свои индивидуальные особенности



## Суммарные Ат

- Скрининг
- Диагностика

## IgM

- Врождённый сифилис
- Ранняя диагностика

## IgG

- Диагностика
- Определение титра
- Возможность оценки в динамике и эффективности терапии\*

***\*в наибольшей степени для этого подходят тест-системы, выявляющие IgG к ТтpА, антитела к которому нарабатываются в первую очередь и раньше других элиминируются после лечения***



# Sensitivity and Specificity of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using the Recombinant DNA-Derived *Treponema pallidum* Protein TmpA for Serodiagnosis of Syphilis and the Potential Use of TmpA for Assessing the Effect of Antibiotic Therapy

O. E. IJSSELMUIDEN,<sup>1</sup> L. M. SCHOOLS,<sup>2</sup> E. STOLZ,<sup>1</sup> G. N. M. AELBERS,<sup>2</sup> C. M. AGTERBERG,<sup>2</sup> J. TOP,<sup>2</sup> AND J. D. A. VAN EMBDEN<sup>2\*</sup>

Department of Dermatovenereology, University Hospital Dijkzigt, Rotterdam,<sup>1</sup> and Laboratory of Bacteriology, National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven,<sup>2</sup> The Netherlands



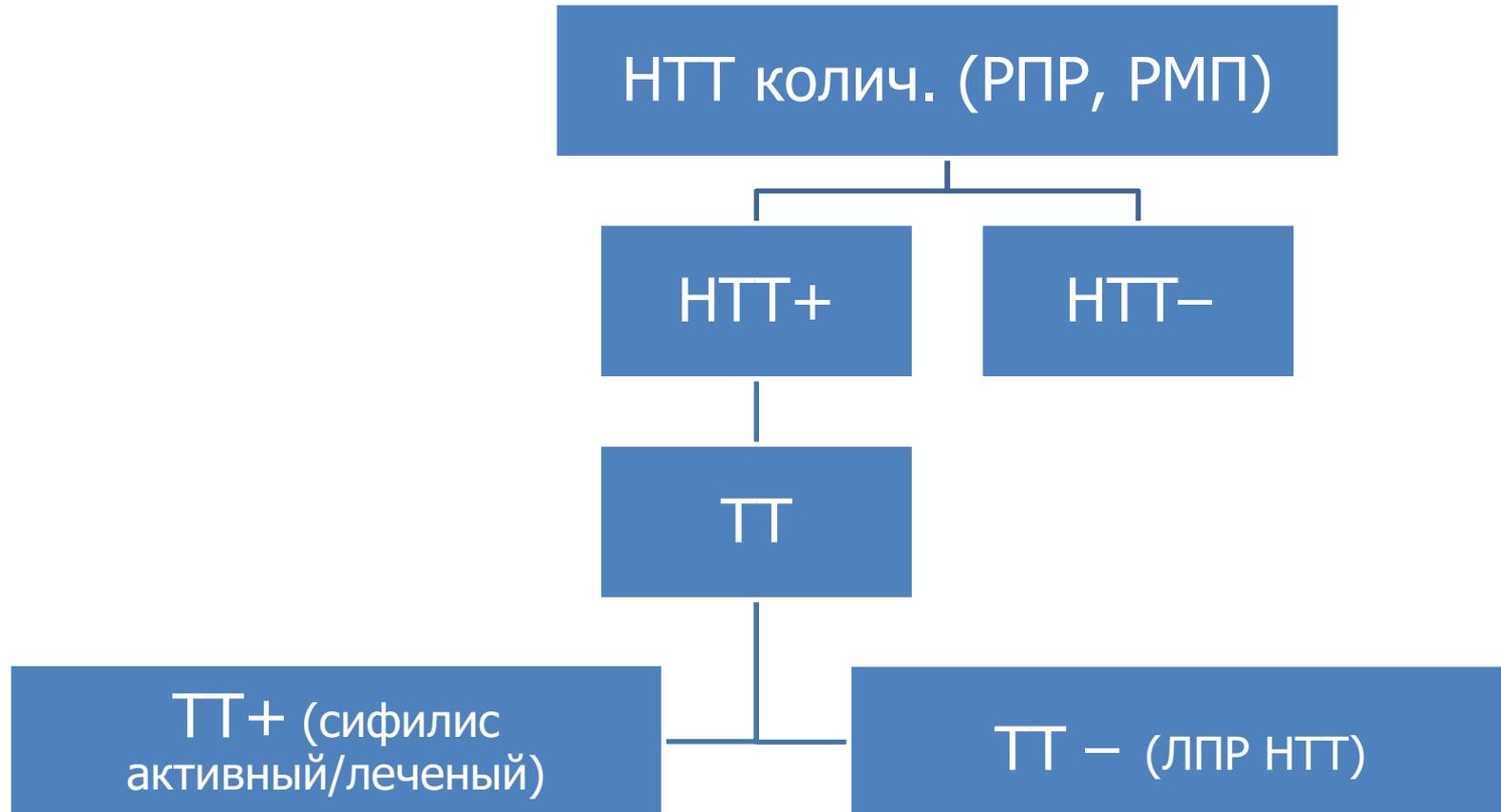
## Преимущества ИФА (сумм. Ат) перед РПГА:

- ✓ Позволяет выявлять ранние стадии заболевания, если у больного присутствуют только IgM
- ✓ Дешевле стоимость анализа, особенно при титровании
- ✓ Возможность автоматизации
- ✓ Объективный учёт результатов
- ✓ Возможно проводить ВЛКК

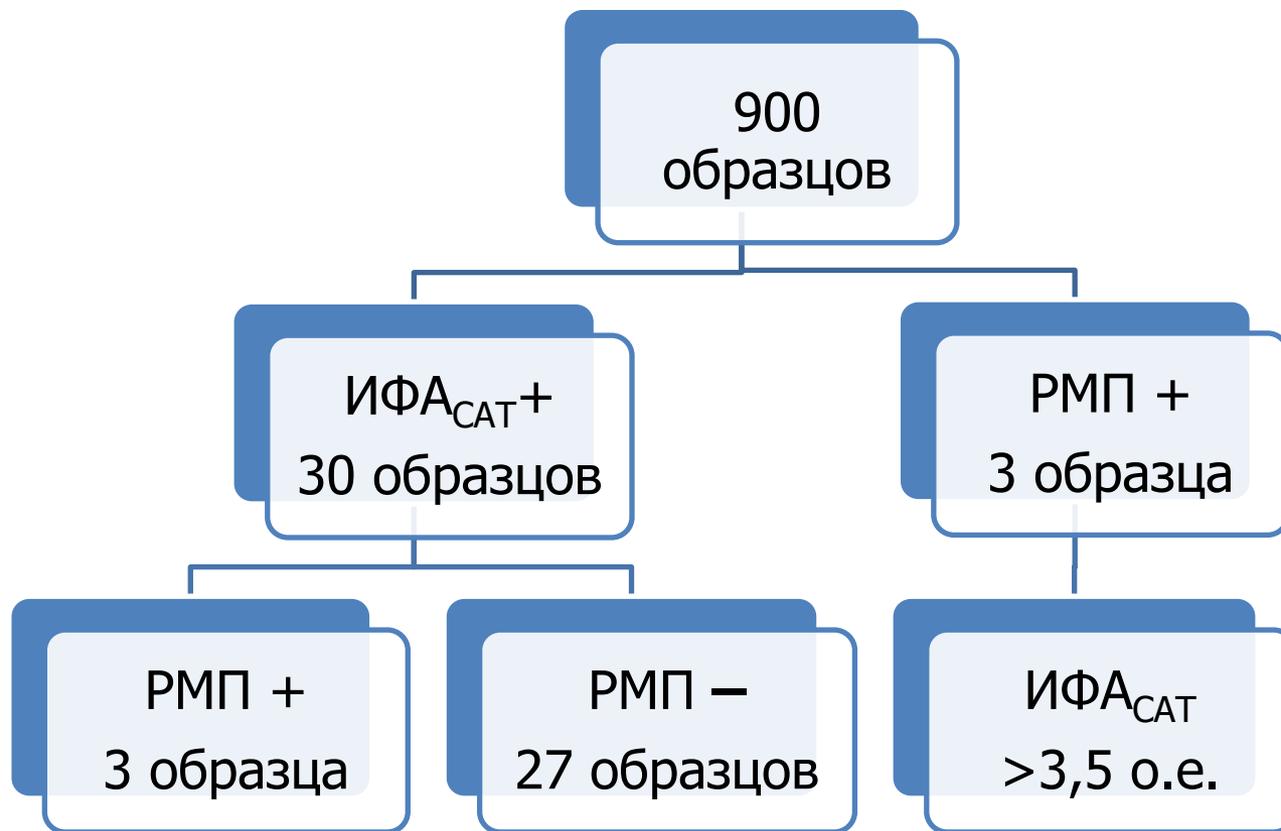


# Серологический скрининг на сифилис

Традиционный алгоритм



# Результаты профилактического обследования населения на сифилис



## **При обследовании контингентов с высоким риском заболевания:**

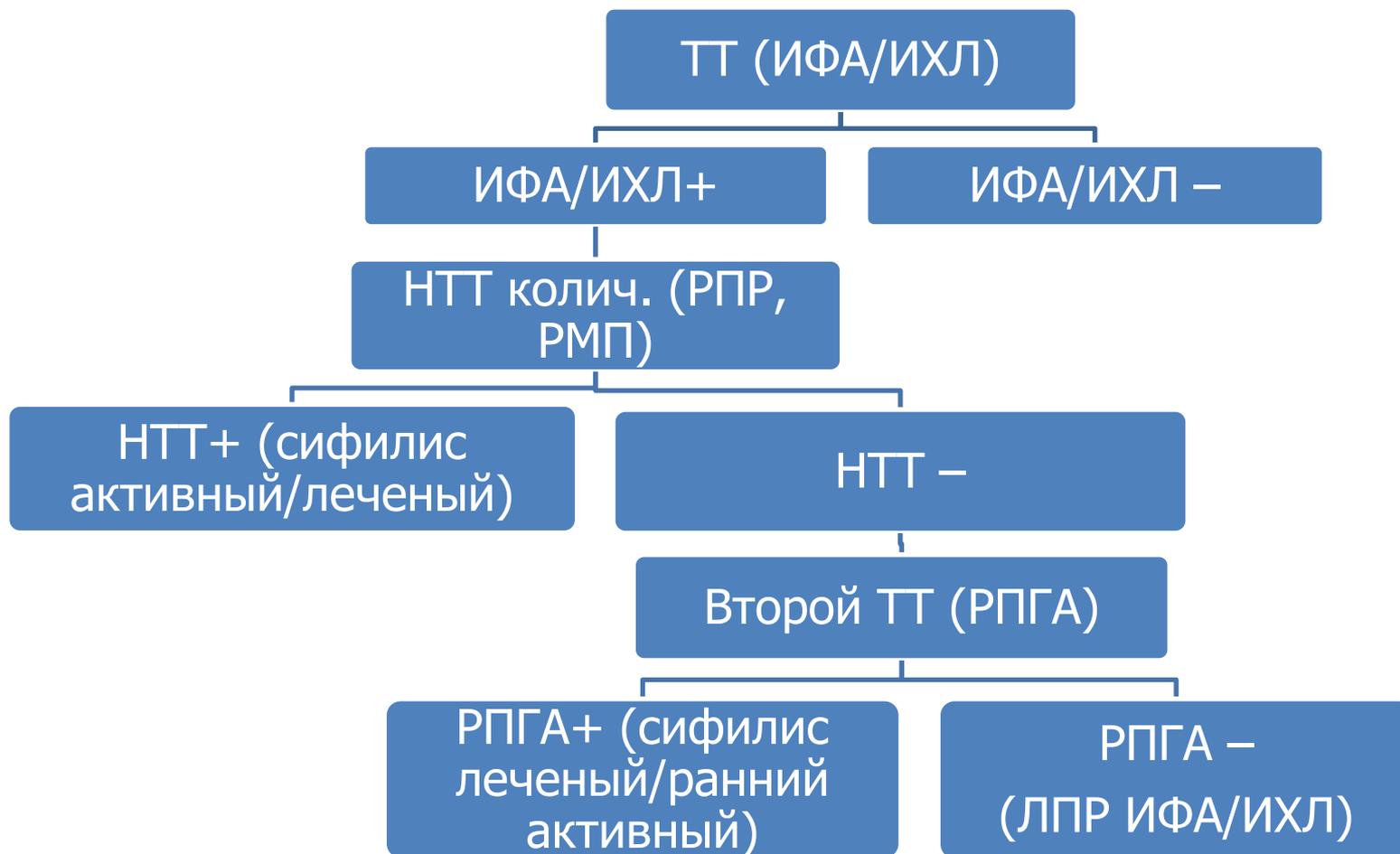
- лица с ИППП;
- лица, обратившиеся в КВД;
- анонимно обследуемые;
- наркоманы;
- лица, находящиеся в местах лишения свободы;
- лица без постоянного места жительства и работы

**должен использоваться высокочувствительный тест – ИФАсумАТ.**



# Серологический скрининг на сифилис

Реверсивный алгоритм



# РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМ СИФИЛИСОМ

Кол-во	Микроскопия	Серологические исследования							
		РМП	РСК		РИФ	ИФА			РПГА
			треп	кард	абс	IgG	IgM	Сум	
5	+	отр	отр	отр	отр	отр	отр	отр	отр
2	<u>±</u>	отр	отр	отр	отр	отр	+ 1/10	+	отр
5	+	отр	отр	отр	отр	+ 1/10 - 1/20	+ 1/20 - 1/80	+	+
1	-	отр	сомн	отр	+	+ 1/10	+ 1/160	+	+
1	-	+	4+ 1/40	4+ 1/40	+	+ 1/640	+ 1/640	+	+

# АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ

- Недостаточная чувствительность РПГА на ранних стадиях инфекции
- Недостаточная чувствительность и специфичность НТТ
- Отсутствие алгоритмов оценки эффективности лечения с помощью ИФА (на фоне неприемлемости такой оценки только по НТТ).



# АЛГОРИТМ СЕРОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ

1

- Скрининговое исследование (ИФА сумАТ)

2

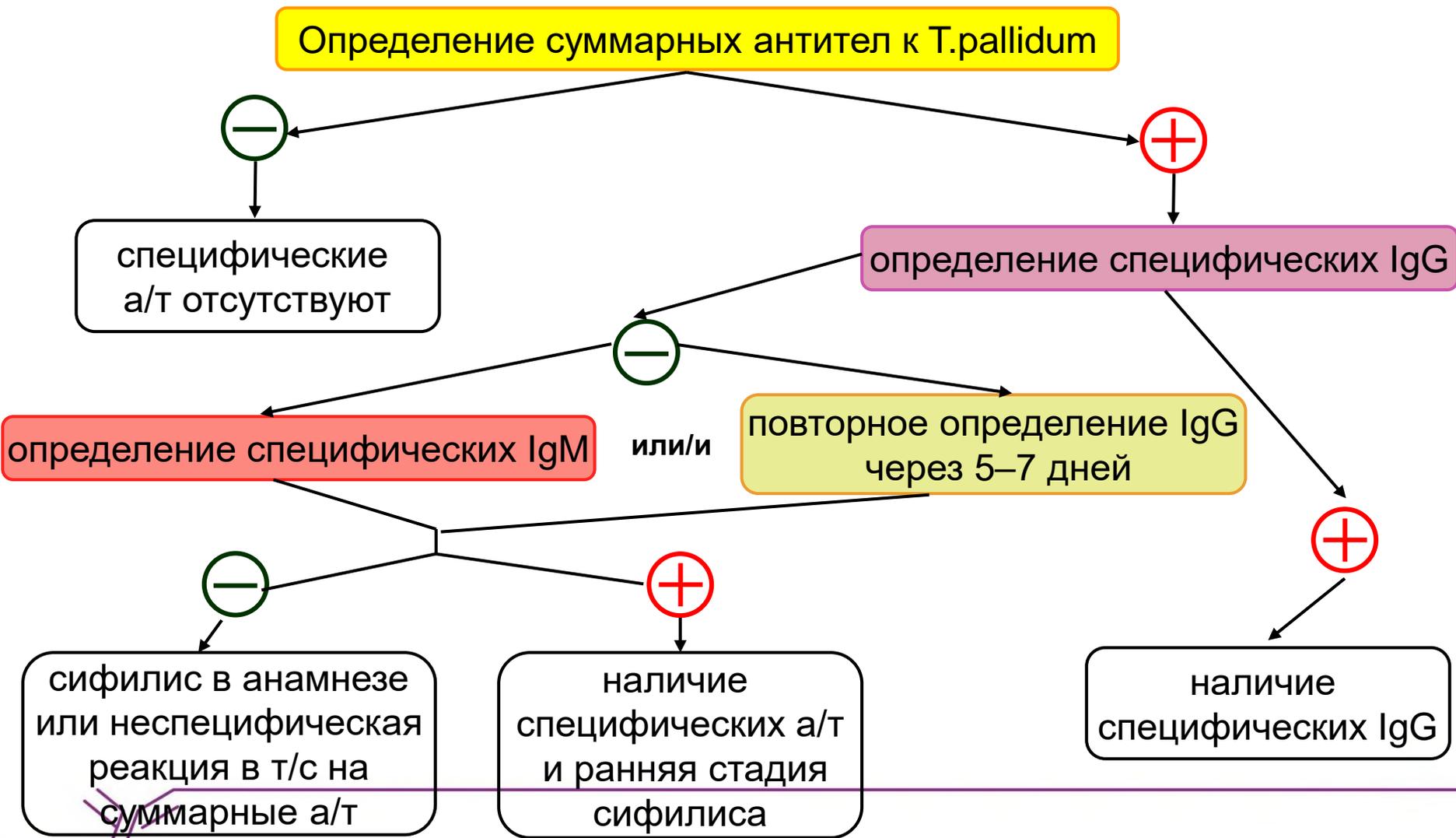
- Направление к венерологу лиц с положительным результатом отборочного теста

3

- Серологическое обследование по направлению венеролога (комплекс исследований с учётом клинических данных и анамнеза)



# Алгоритм иммуноферментного обследования на сифилис



# ИФА – диагностика сифилиса

Вариант	Сумм. а/т	IgM	IgG	Интерпретация результатов
1	+	+	-	Ранняя стадия сифилиса (конец инкубационного периода – начало первичного серонегативного)
2	+	+	+	Манифестный либо ранний скрытый сифилис
3	+	-	+	Манифестный, скрытый или пролеченный сифилис
4	+	-	-	Сифилис в анамнезе (сероконтроль) или ЛПР в тест-системе на суммарные антитела



# Аттестация образцов, полученных из КВД

Кол-во пациентов	Характеристика	Сумм. АТ	IgG	IgM	РПР (кард.АГ)	РПГА
1079	+	322	254 (78,9%)	19 (5,9%)	121 (37,6%)	313 (97,2%)
	-	757	750 (99,1%)	749 (98,9%)	740 (97,8%)	721 (95,2%)



# ФОРМА ВЫДАЧИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

- ИФА<sub>сумАТ</sub> – отрицательный  
ИФА<sub>сумАТ</sub> – положительный, КП
- ИФА<sub>IgG</sub> – отрицательный  
ИФА<sub>IgG</sub> – положительный, титр 1/...  
Указать название тест-системы или производителя !
- ИФА<sub>IgM</sub> – отрицательный  
ИФА<sub>IgM</sub> – положительный, титр\* 1/...  
Указать название тест-системы или производителя !



# Результаты определения титров IgG в положительных образцах

№ обр.	ОП <sub>1:10</sub>	КП <sub>1:10</sub>	ОП <sub>1:100</sub>	КП <sub>1:100</sub>	ОП <sub>1:1000</sub>	КП <sub>1:1000</sub>	Титр
8126	<b>3,476</b>	14,5	<b>2,470</b>	10,3	<b>0,263</b>	1,1	1/1280
8172	<b>3,187</b>	13,2	<b>1,234</b>	<b>5,1</b>	0,127	0,5	1/640
8184	<b>3,170</b>	13,0	<b>2,276</b>	9,3	<b>0,293</b>	1,2	1/1280
8186	<b>2,765</b>	11,3	<b>0,963</b>	<b>4,0</b>	0,080	0,3	1/320
8190	<b>3,205</b>	13,1	<b>2,732</b>	11,2	<b>0,412</b>	1,7	1/1280
8204	<b>2,911</b>	11,9	<b>3,410</b>	13,9	<b>1,793</b>	<b>7,4</b>	1/5120
8215	<b>3,141</b>	12,9	<b>2,646</b>	10,8	<b>0,531</b>	<b>2,2</b>	1/2560



## ПРИМЕР 2

Больная Н., 22 г., DS: L скрытый ранний

Срок после лечения	ИФА IgG			ИФА IgM	
	ОП <sub>1:10</sub> , о.е.	КП <sub>1:10</sub>	Титр	ОП, о.е.	Титр
До лечения	3,497	14,0	1/1280	1,240	>1/1280
2 мес.	3,783	14,6	1/1280	0,341	1/10
4,5 мес.	3,288	13,2	1/320	Отр.	-
9 мес.	2,746	11,0	1/160	Отр.	-

У/К

# ПРИМЕР 3

Больная К., 23 г., DS: LI

Срок после лечения	ИФА IgG			ИФА IgM	
	ОП <sub>1:10</sub> , о.е.	КП <sub>1:10</sub>	Титр	ОП, о.е.	Титр
До лечения	0,567	2,3	1/10	0,471	1/80
1,5 мес.	2,024	8,1	1/320	Отр.	-
3 мес.	2,431	9,7	1/160	Отр.	-
4 мес.	2,295	9,2	1/80	Отр.	-
6 мес.	1,679	6,7	1/40	Отр.	-
8 мес.	0,985	3,9	1/20	Отр.	-

# Диагностика нейросифилиса

- Для исследования ликвора могут использоваться следующие тесты:

**МР (или аналоги), РИФ<sub>ц</sub>,  
ИФА, РПГА, ИБ**

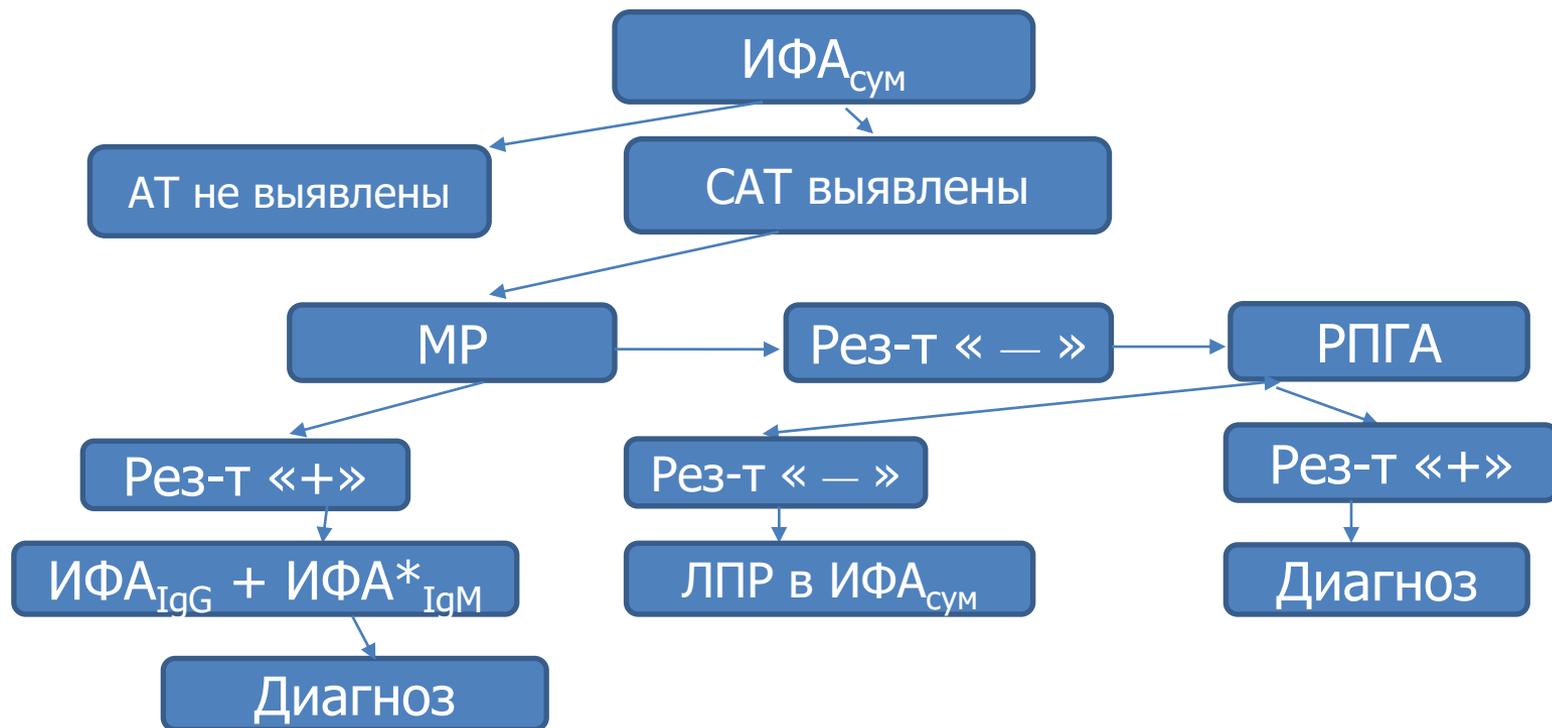
- Сравнительное исследование сыворотки крови и ликвора:

**МР (или аналоги) + ИФА<sub>IgG</sub> + ИФА<sub>IgM</sub> + РИФ<sub>ц</sub>**

**в количественном варианте**



# Диагностика нейросифилиса



# Врожденный сифилис



# РЕЗУЛЬТАТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Тестирование 45 детских сывороток*

Диагноз	Всего в группе	Количество образцов, давших положительный результат			
		RW	РИФ	ИФА	
				IgG	IgM
СВРА	9	9	9	9	8 (89%)
СВРС	16	16	16	16	12 (75%)
Здоровые	20	0	0	0	0



# Наличие собственных серологических маркеров на момент рождения ребенка

Сроки инфицирования плода	<i>IgG</i>	<i>IgM</i>
I половина беременности	+	-/+
II половина беременности	-/+	+/-
В родах	-	-



# Особенности серодиагностики врожденного сифилиса

- Наличие IgM у ребенка свидетельствует о присутствии в организме вирулентного возбудителя
- Отсутствие IgM не может служить основанием для исключения диагноза врожденного сифилиса



# Тактика обследования детей в случае отсутствия у них IgM

- обязательное сравнительное исследование крови матери и ребенка на наличие IgG
- серологический контроль в динамике



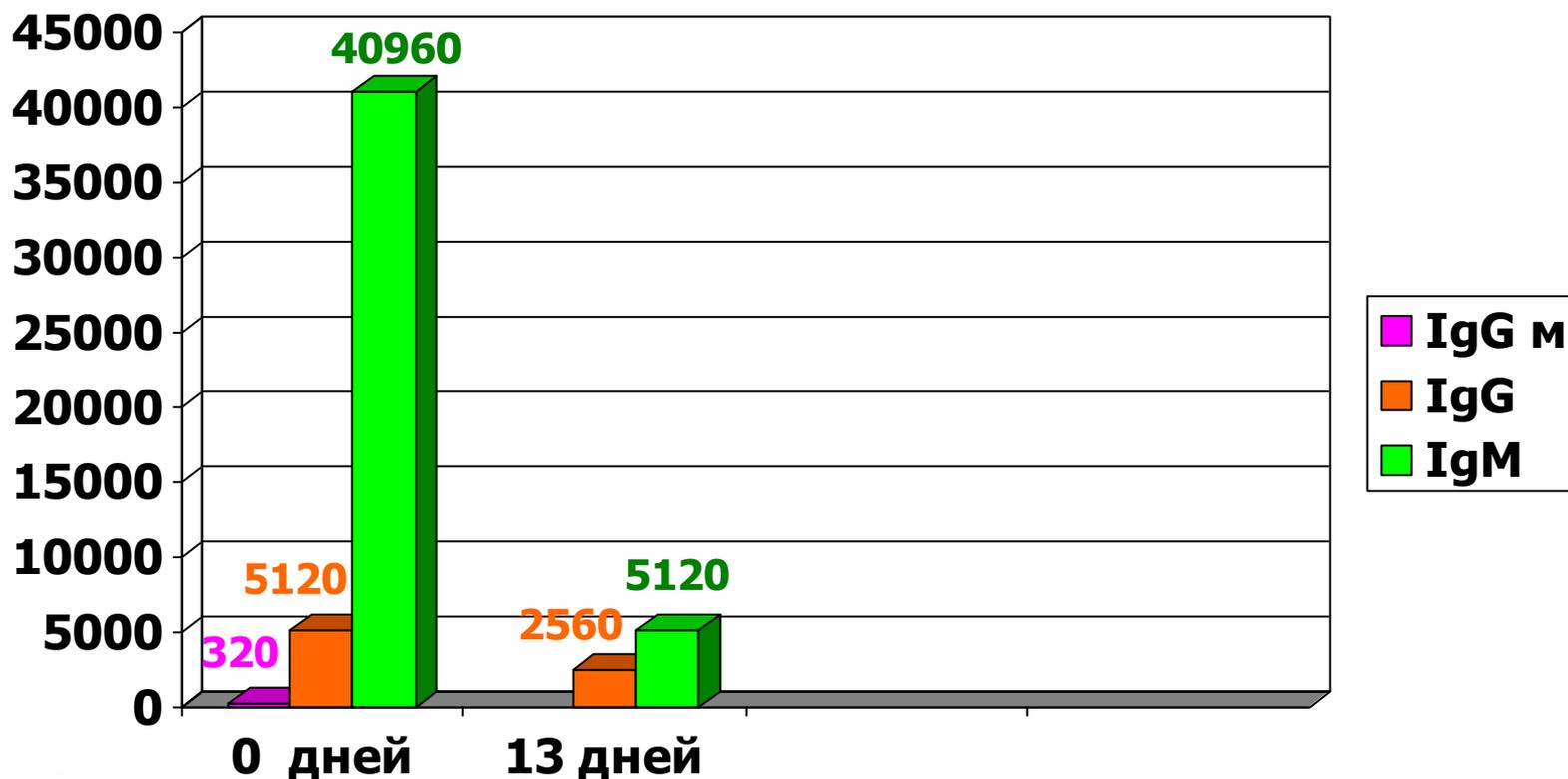
# Интерпретация результатов сравнительного исследования крови матери и ребенка

<b>Титр IgG реб. <math>\leq</math> Титр IgG мат.</b>	<b>Титр IgG реб. <math>&gt;</math> Титр IgG мат.</b>
Наличие у ребенка <b>материнских</b> IgG	Наличие у ребенка <b>собственных</b> IgG



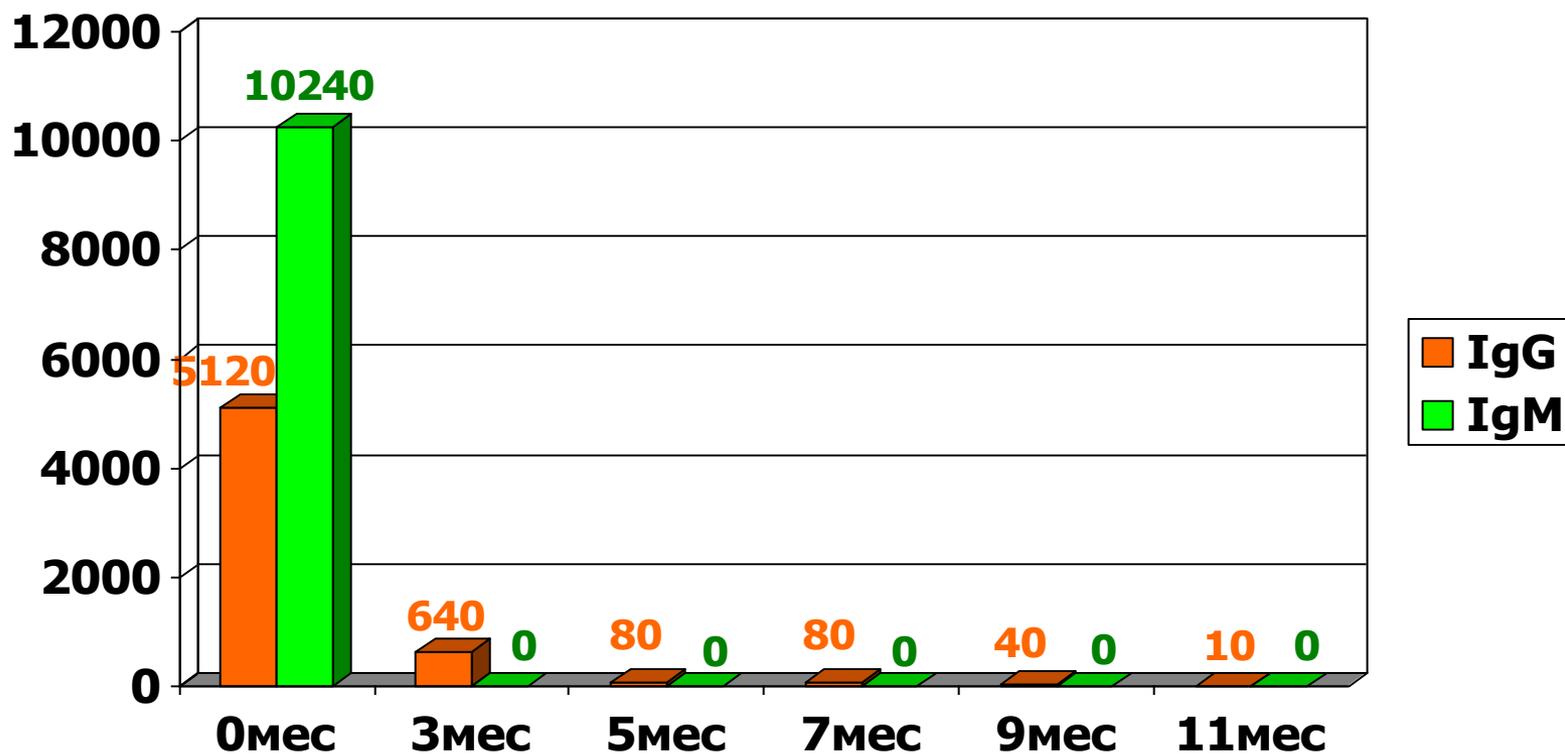
# ДИНАМИКА СНИЖЕНИЯ ТИТРА АНТИТЕЛ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ВРОЖДЕННОГО СИФИЛИСА

(клинический случай)



# ДИНАМИКА ЭЛИМИНАЦИИ АНТИТЕЛ ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ВРОЖДЕННОГО СИФИЛИСА

(клинический случай)





Назаренко Илья Дмитриевич  
Биотехнолог отделения ИФА сифилиса  
[Nazarenko@vector-best.ru](mailto:Nazarenko@vector-best.ru)

