

Амелина Е.А. начальник отдела перспективных разработок , К.Б.Н.

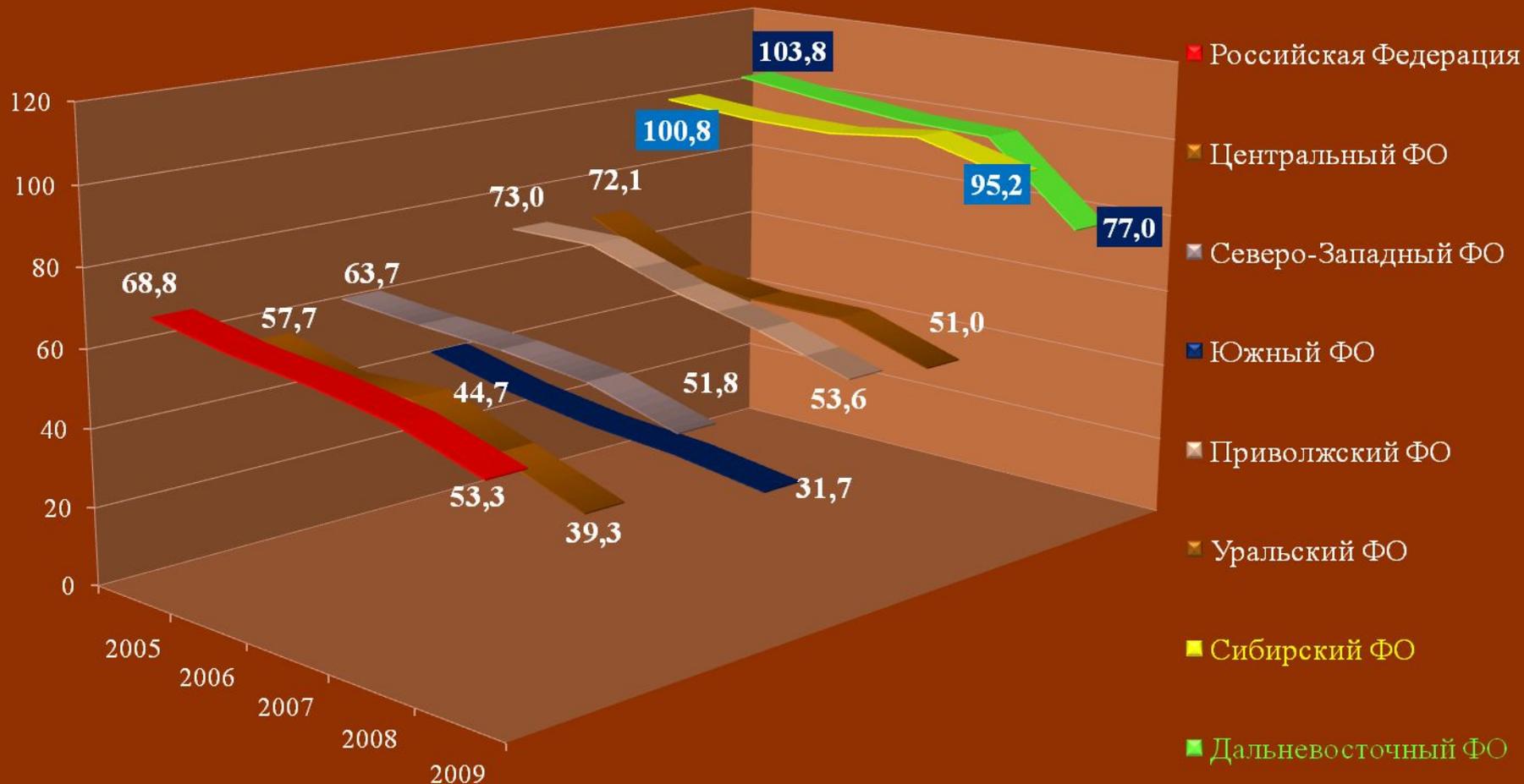
**ЗАО «ЭКОлаб»
лабораторная диагностика
сифилиса**

Динамика заболеваемости сифилисом в Российской Федерации (1992-2009 гг.)

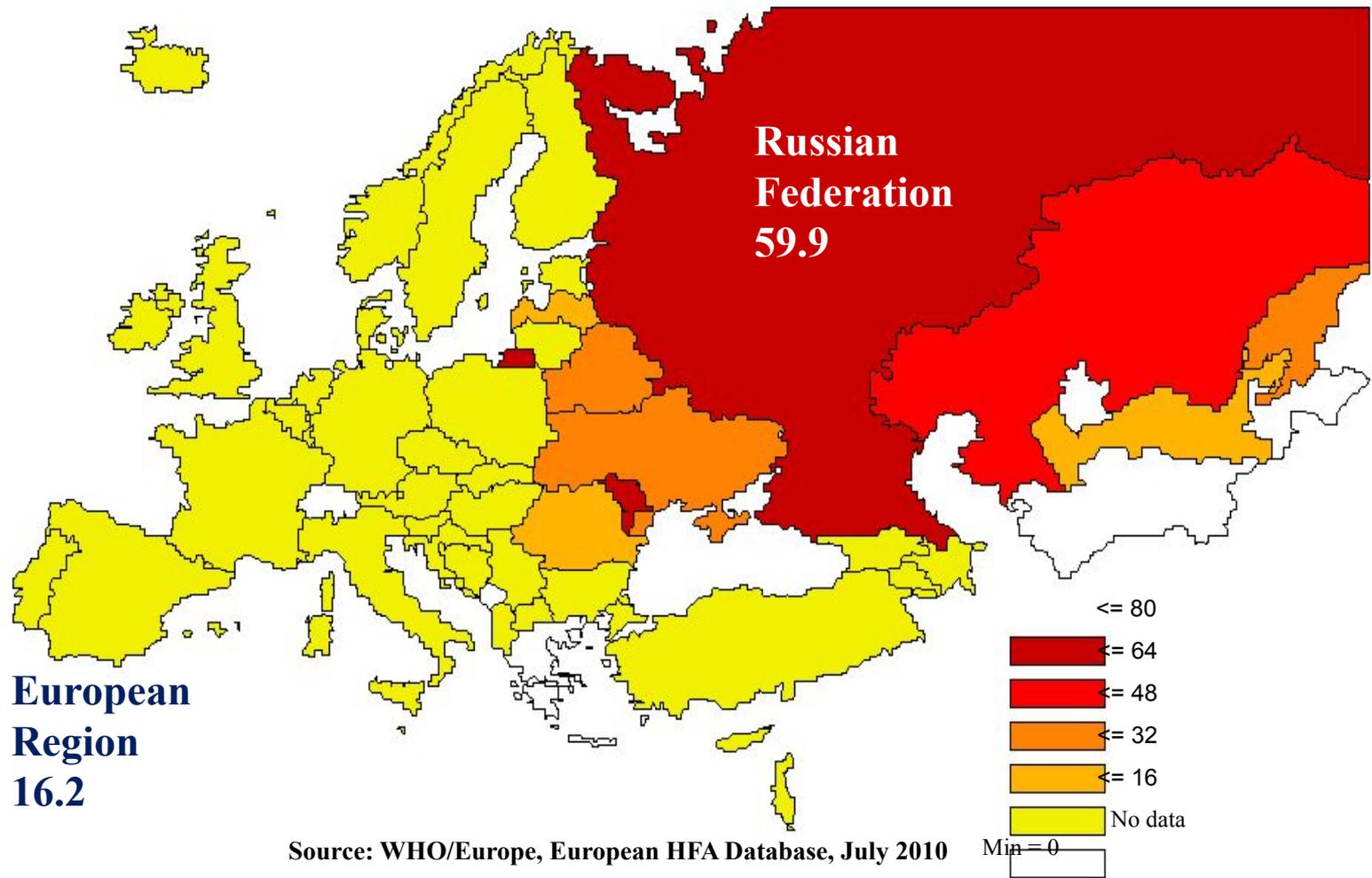
[на 100 тыс. населения]



Динамика заболеваемости сифилисом по федеральным округам РФ (2005-2009 гг.) [на 100 тыс. населения]



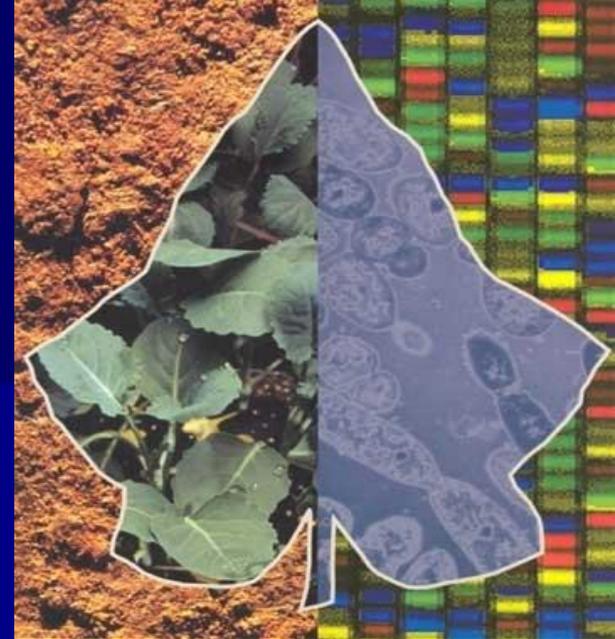
Заблеваемость сифилисом в странах Европы [на 100 000 населения] 2008 г.



□ Перераспределение в структуре скрытого сифилиса с возрастанием эпидемически опасных ранних форм инфекции

□ Рост осложнений: мертворождения, врождённый сифилис, нейросифилис, третичный сифилис, серорезистентность

□ Оседание в стационарах соматического профиля до 30-32% от всех зарегистрированных случаев



Серологические исследования являются в настоящее время основным элементом клинической лабораторной диагностики сифилиса.
Они решают три задачи:

- скрининг на сифилис;
- диагностика сифилиса при наличии подозрений на него;
- контроль эффективности лечения диагностированного сифилиса

Методы диагностики сифилиса



Прямые

Темнопольная
микроскопия

Прямая иммуно-
флюоресценция

ПЦР

Непрямые (серологические)

Нетрепонемные
тесты

Трепонемные
тесты

Окончательный диагноз

Предварительный диагноз

ПЦР-исследование на *T.pallidum*

Все ПЦР – тесты собственного производства перед использованием должны быть апробированы путем тестирования:

- не менее 10 образцов от больных сифилисом, положительных в методе ТПМ (образец) с положительными серореакциями (кровь)
- не менее 10 образцов от пациентов, у которых в методе ТПМ (образец) и при серологическом исследовании (кровь) получен отрицательный результат



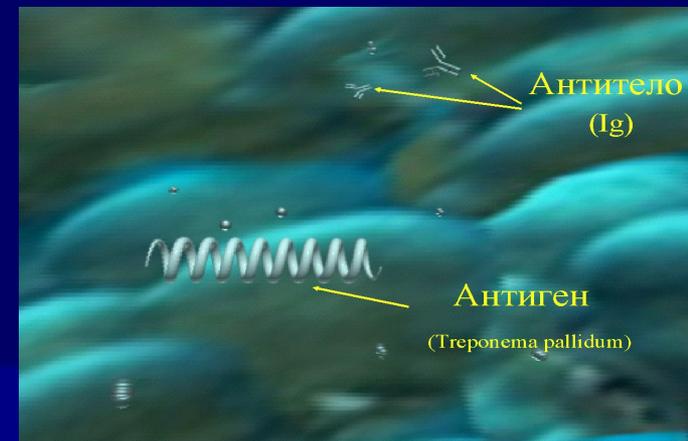
В настоящее время ПЦР для диагностики сифилиса имеет исследовательский статус

Нетрепонемные тесты

Сифилис VDRL –тест

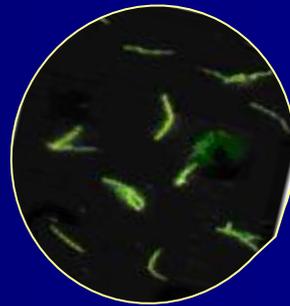
(Venereal Disease Research Laboratory)

Рекомендован к применению ВОЗ



- ❑ Микрофлокуляционный тест на основе кардиолипинового антигена
- ❑ Применение микроскопа с X100 позволяет рассмотреть микрокомплексы АГ-АТ
- ❑ Исследование образцов смж редко даёт ложноположительный результат в отличие от исследования инактивированной сыворотки
- ❑ Традиционный диагностический тест для постановки диагноза нейросифилиса
- ❑ Мониторинг эффективности лечения

- **РИФ – реакция иммунофлуоресценции (FTA Fluorescent treponemal antibody)**



Д набор реагентов для определения антител к антигенам *T.pallidum*
Сифилис-IgG-РИФ и Сифилис-IgM-РИФ

Рекомендации по применению отдельных ТТ

РИФ (в особенности **РИФабс**) считается наиболее чувствительным тестом на сифилис и принята в качестве «золотого стандарта» среди ТТ.

Чувствительность при первичном сифилисе - 70-100%, при вторичном и позднем - 96-100%, специфичность – 94-100%

Показания к применению: «золотой стандарт»

подтверждающего теста на сифилис

Ограничения применения:

не может использоваться при скрининге ввиду трудоемкости ручной методики исследования, необходимости использования флуоресцентного микроскопа, субъективности оценки результатов теста

Трепонемные тесты

- ИФА-Антипаллидум-скрин
- ИФА-Антипаллидум-одностадийный
- ИФА-Антипаллидум-IgG

(Аналитическая чувствительность методов – 0,01- 0,02 МЕ/мл)

- ИФА-Антипаллидум-IgM
- Сифилис РПГА-тест

(Аналитическая чувствительность метода – 0,05МЕ/мл)

Все системы контролируются международным стандартом ВОЗ (NIBS, London, UK) для выпуска с одинаковой аналитической чувствительностью всех серий

Ограничения применения ТТ

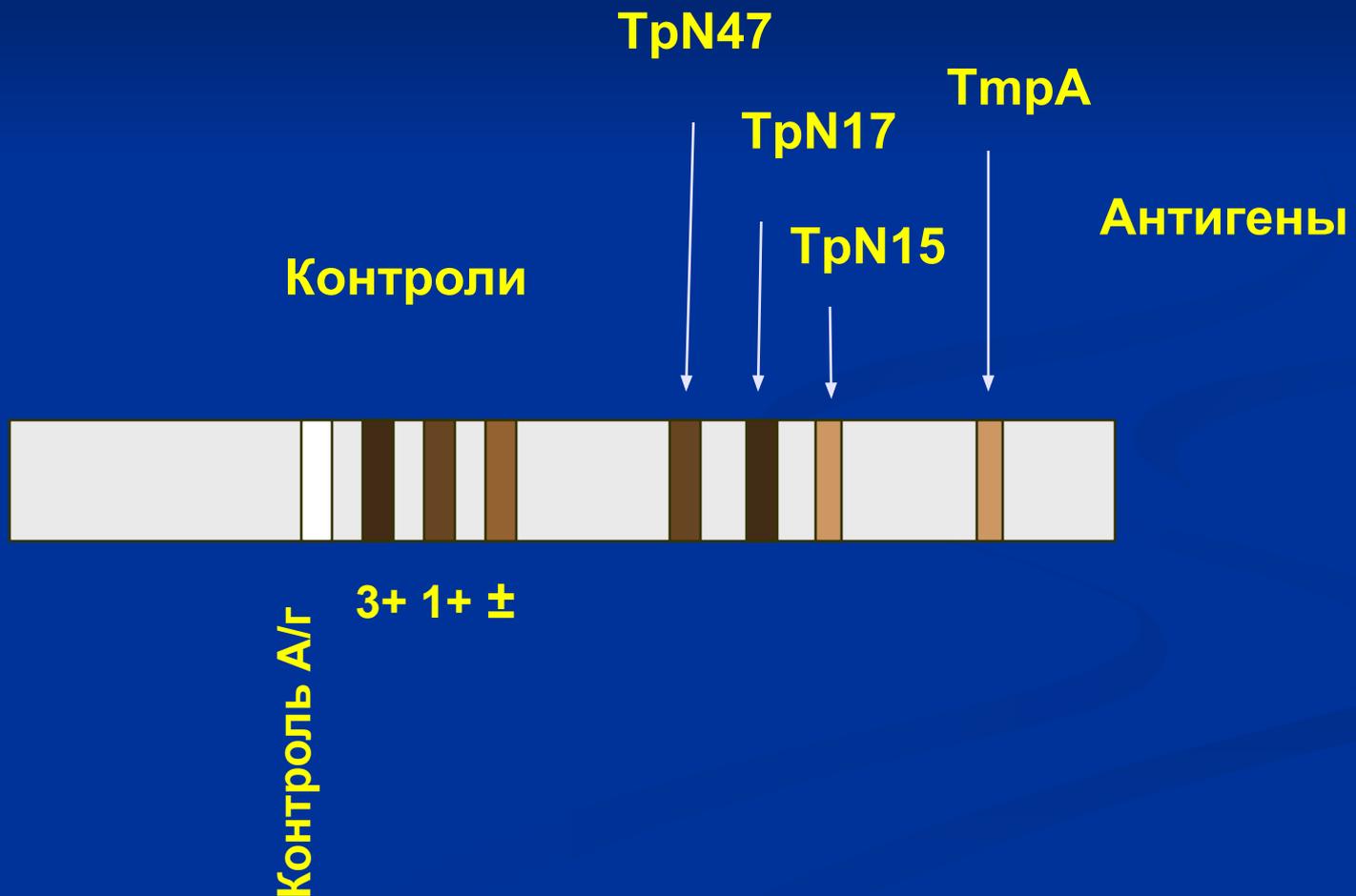
- ТТ не могут быть использованы для контроля эффективности проведенной специфической терапии, так как антитрепонемные антитела могут длительно циркулировать в организме больного, перенесшего сифилитическую инфекцию
- Дают положительные результаты при тропических трепонематозах (фрамбезия - вызывается *T.pertenue* и пинта - вызывается *T.carateum*)
- Могут давать ложные положительные реакции у больных с аутоиммунными заболеваниями, проказой, онкологической и эндокринной патологией, а также и при некоторых других заболеваниях и состояниях

Лайн-Блот Сифилис

Вариант иммуноферментного анализа в формате линейного блота для регистрации антител к наиболее иммуногенным детерминантам



Расположение антигенов в *Лайн Блот Сифилис*

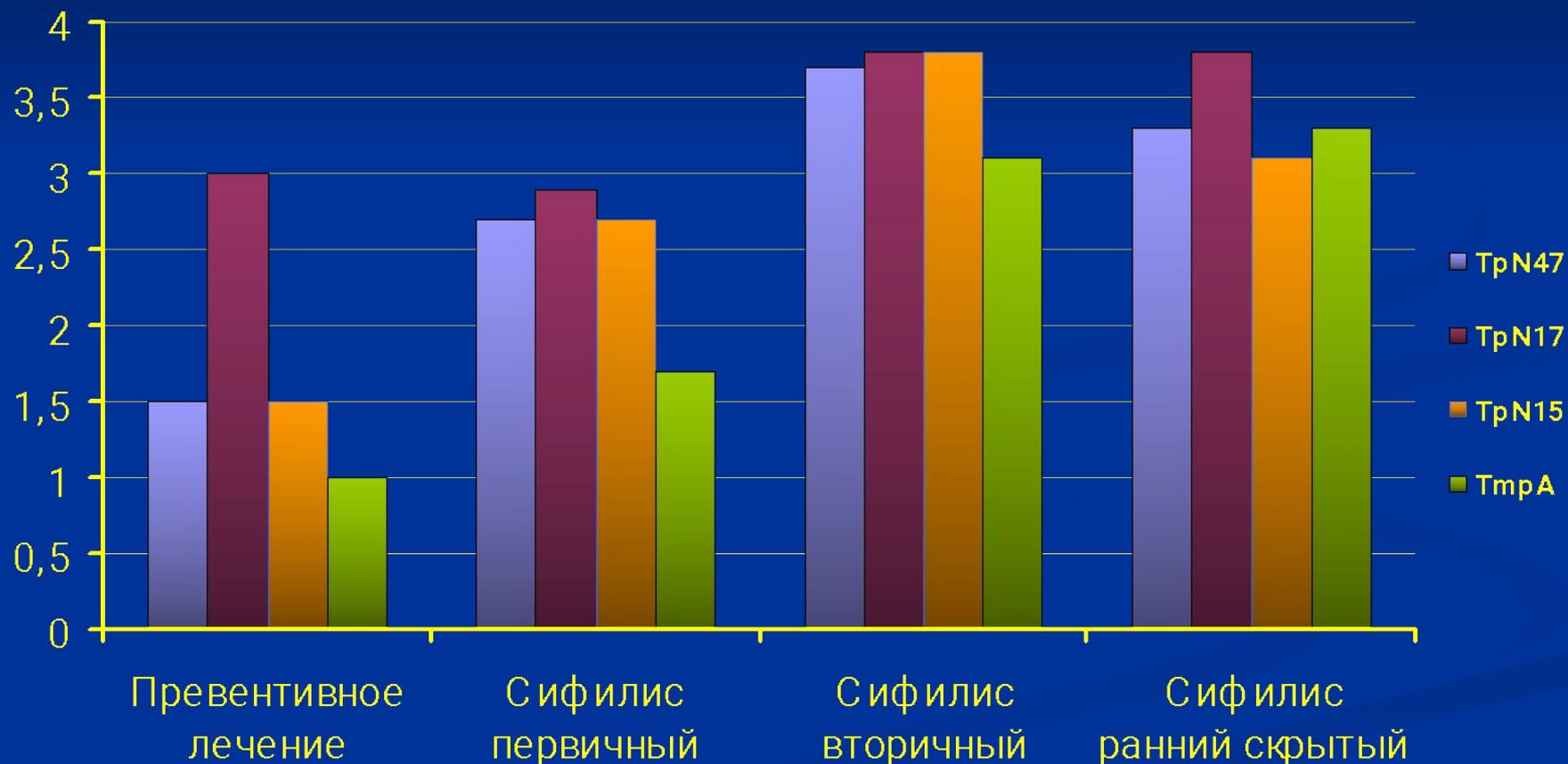


Принцип технологии иммуноблоттинга

- Иммуобилизация на нитроцеллюлозную мембрану рекомбинантных белков - аналогов антигенов *Treponema pallidum* p17, p 47, p 41, p15
- Проведение иммуноферментного анализа для одновременного дифференцированного выявления антител к каждому из нанесённых на мембрану антигенов
- Антитела к белкам *T. pallidum* в разной степени регистрируются на всех стадиях инфекции
- Выявлена зависимость появления антител к различным белкам на разных стадиях инфекции

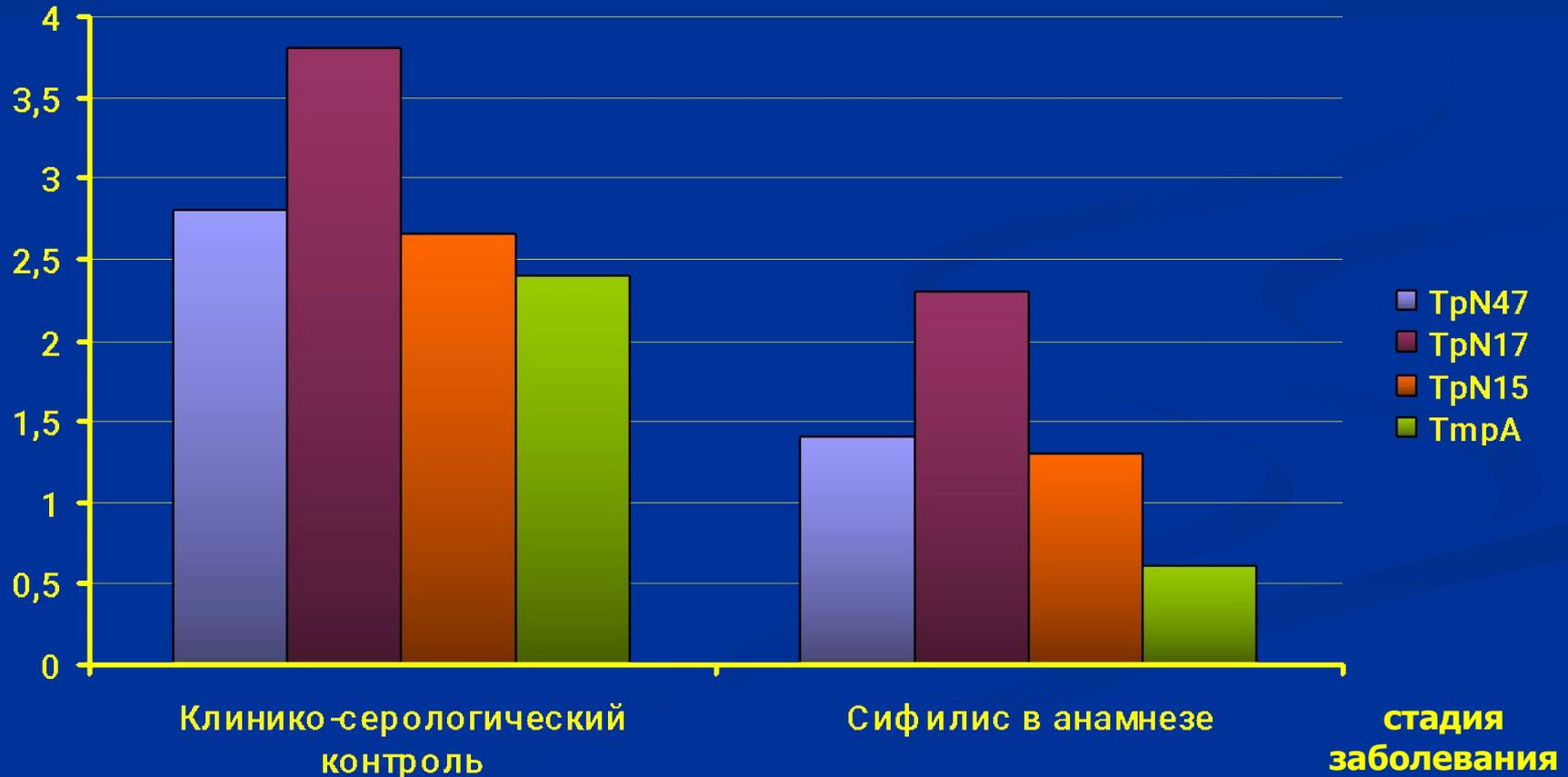
Оценка интенсивности антителообразования к белкам *T.pallidum* у больных сифилисом

Условные ед. «+»



Интенсивность антителообразования к белкам *T.pallidum* у пациентов после перенесенного сифилиса

Условные ед. «+»



□ Реактивность сыворотки оценивают по каждому антигену отдельно, путём сравнения интенсивности окрашивания полученных полос с окрашиванием трёх калибровочных линий



□ Отслеживание белкового профиля помогает при уточнении стадии инфекции и в оценке эффективности проведённого лечения

Частота выявления антител к основным иммунореактивным белкам Tr.Pallidum

- TrN15 – 67,5%
- TrN17 – 98,5%
- TmpA – 95,0%
- TrN47 – 92,5%

За счет высокой степени очистки рекомбинантных антигенов и одновременного выявления антител к наиболее иммуногенным детерминантам возбудителя сифилиса метод обладает высокой чувствительностью (99,6-100%) и специфичностью (100%), что позволяет рассматривать его как новый подтверждающий тест на сифилис.

Применение метода иммуноблоттинга целесообразно:

- Для ранней диагностики сифилиса. В возможном инкубационном периоде и при первичном сифилисе
- Для подтверждения диагноза скрытого раннего сифилиса (при противоречивых результатах традиционных серологических методов)
- При необходимости проведения дифференциальной диагностики с л/положительными результатами серологических реакций на сифилис, особенно, при аутоиммунных заболеваниях: ревматизме,СКВ
- В сложных диагностических ситуациях, как референс-метод.
- При оценке результатов лечения
- При необходимости установления ретроспективного диагноза.

Основные характеристики :

Общее время постановки - 2ч 45 мин

Необходимый объем сыворотки (плазмы) или ликвора – 20 мкл.

Срок годности набора – 12 месяцев.

Число определений, включая контрольные образцы –24

Специфичность и чувствительность при оценке на сыворотках панелей МБС – 100 %.

Преимущества:

Действует принцип: «Один пациент – одна тест-полоска – один результат»

Возможность тестирования образцов ликвора

Все компоненты тест-системы - окрашенные жидкие реагенты - готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения

Возможность проведения реакции ИБ с использованием анализаторов.

Автоматическая станция ProfiBlot 48 для исследования в иммуноблоттинге



Основные направления развития диагностики сифилиса

- Автоматизация и объективизация выполнения исследований (роботизированные станции, фотометры)



*Спасибо за
внимание !*

