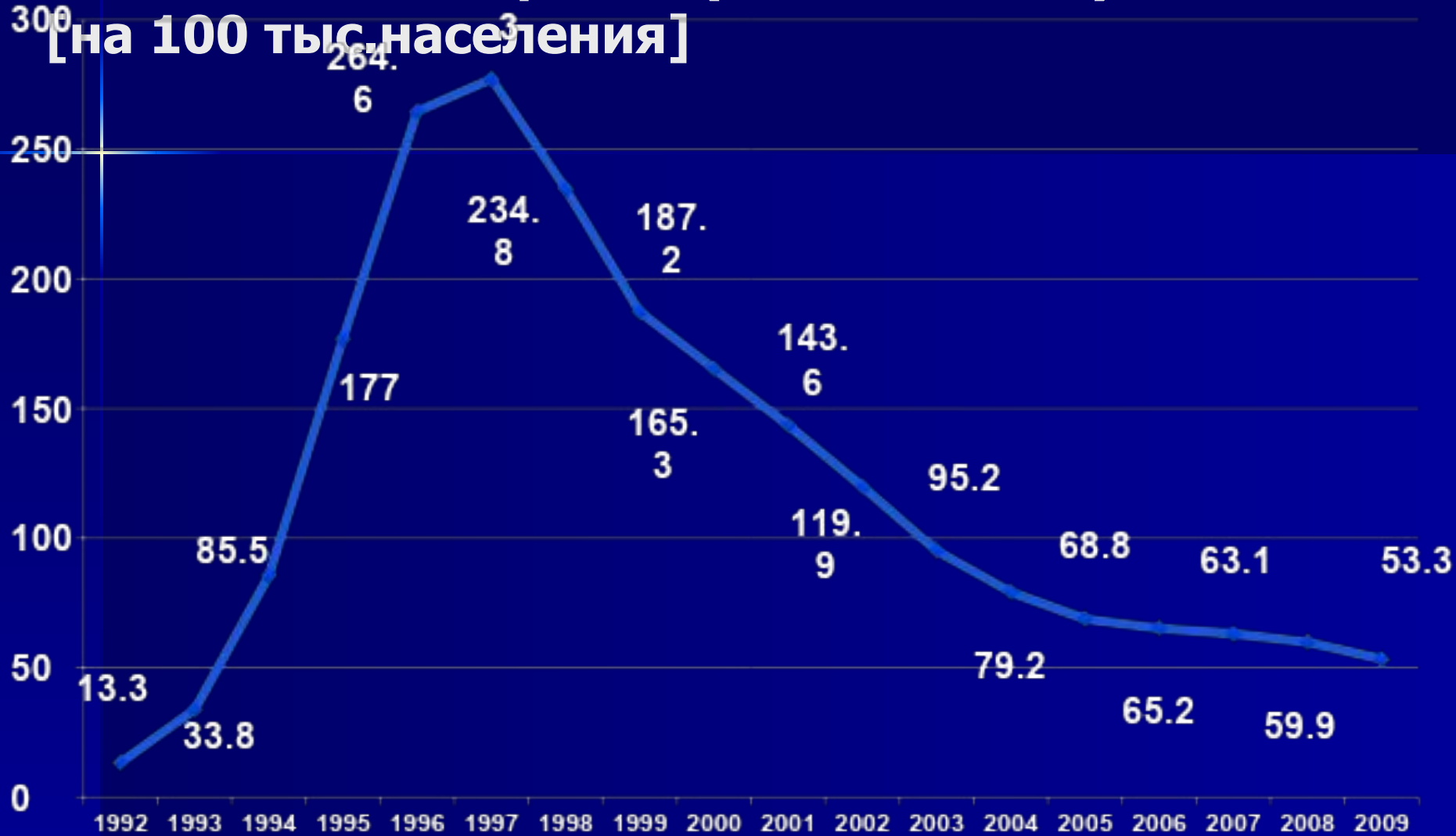


Амелина Е.А. начальник отдела перспективных разработок , К.Б.Н.

**ЗАО «ЭКОлаб»  
лабораторная диагностика  
сифилиса**

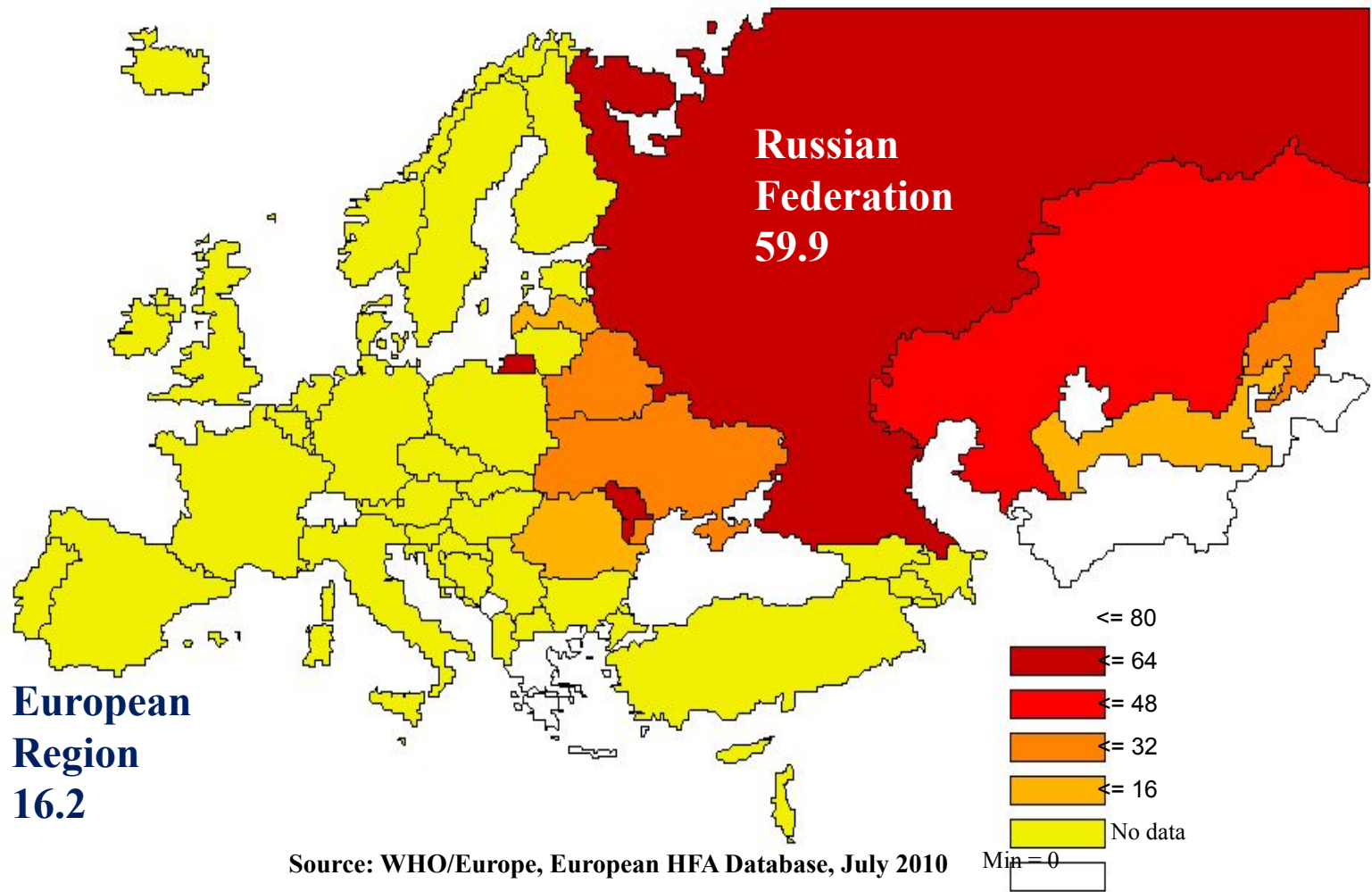
# Динамика заболеваемости сифилисом в Российской Федерации (1992-2009 гг.)

[на 100 тыс. населения]





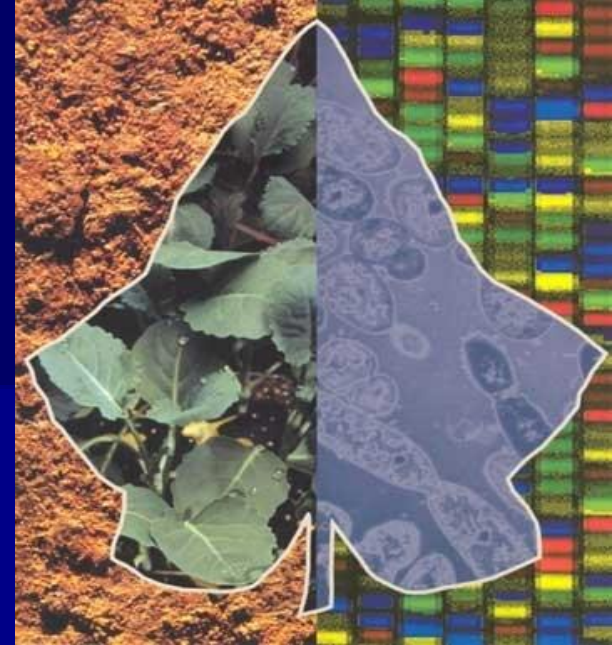
# Заболееаемость сифилисом в странах Европы [на 100 000 населения] 2008 г.



□ Перераспределение в структуре скрытого сифилиса с возрастанием эпидемиологически 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

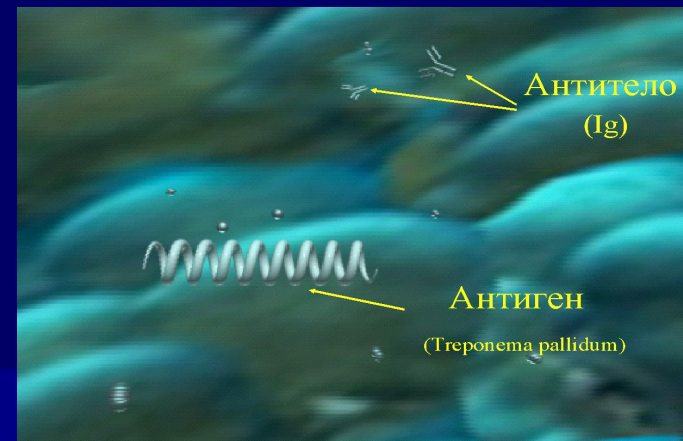


# Нетрепонемные тесты

## Сифилис VDRL –тест

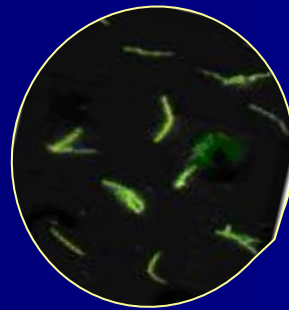
(Venereal Disease Research Laboratory)

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 – 0,05 МЕ/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

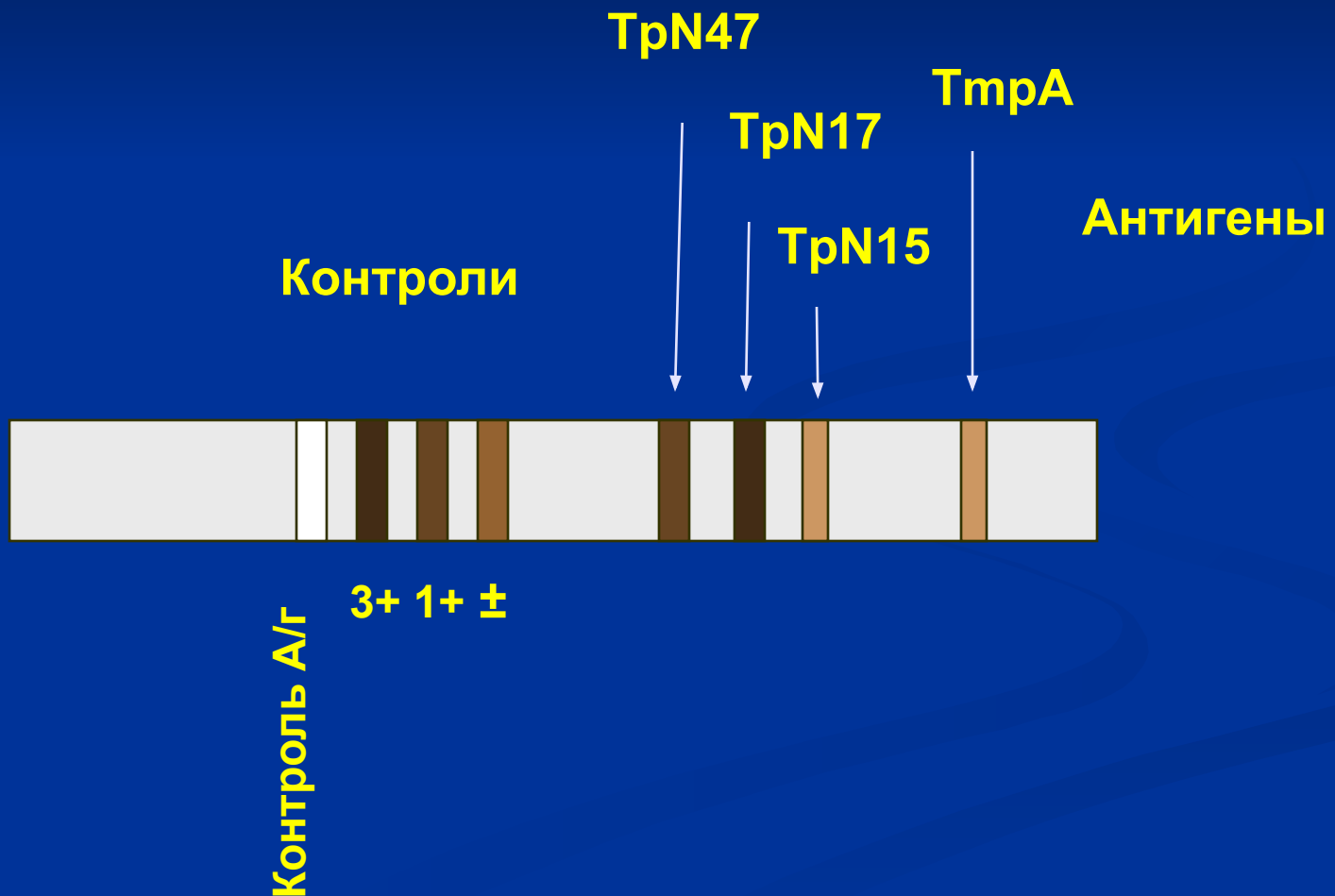


# Лайн-Блот Сифилис

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



# Расположение антигенов в *Лайн Блот Сифилис*



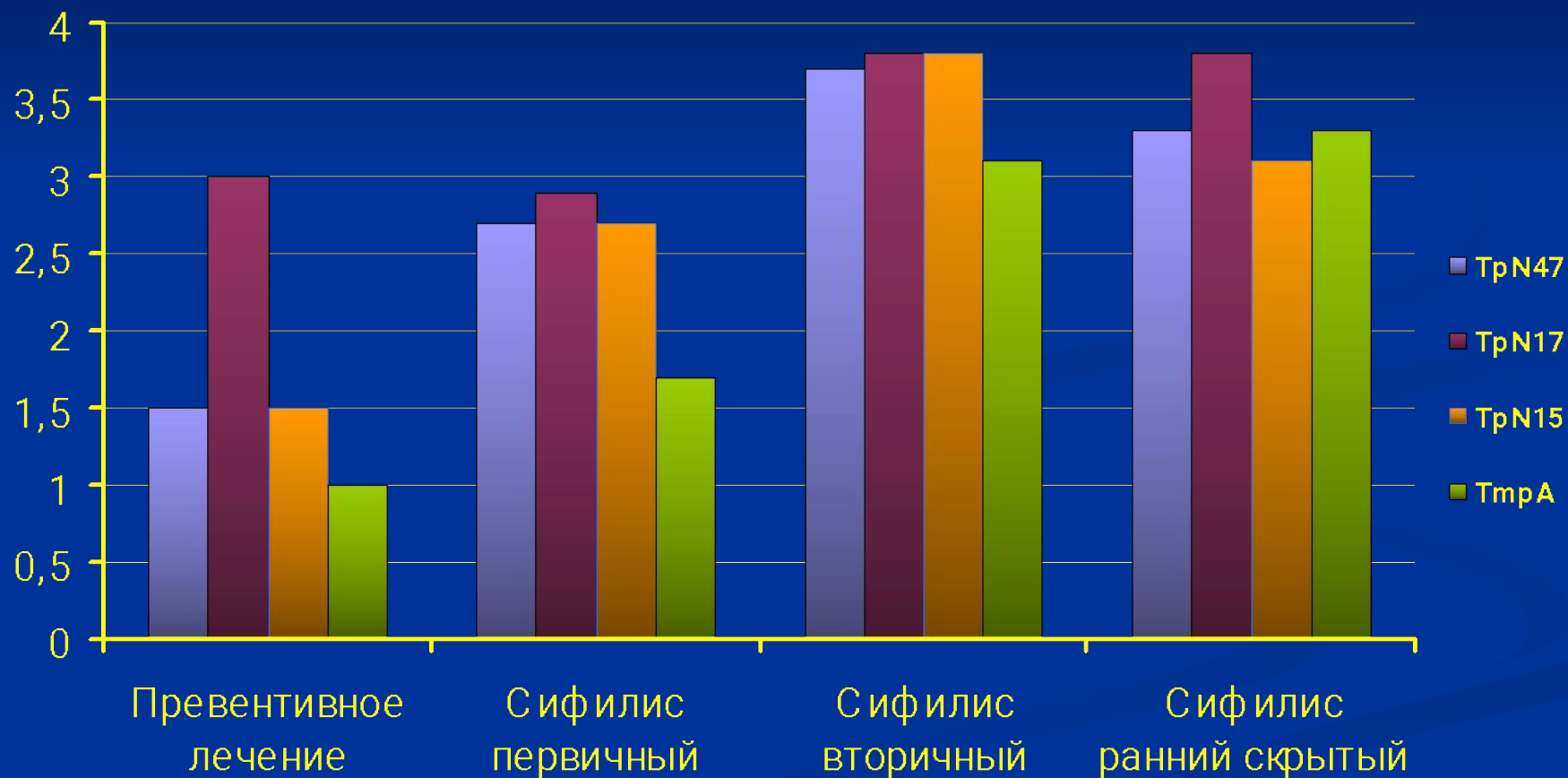


# Принцип технологии иммуноблоттинга

- 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

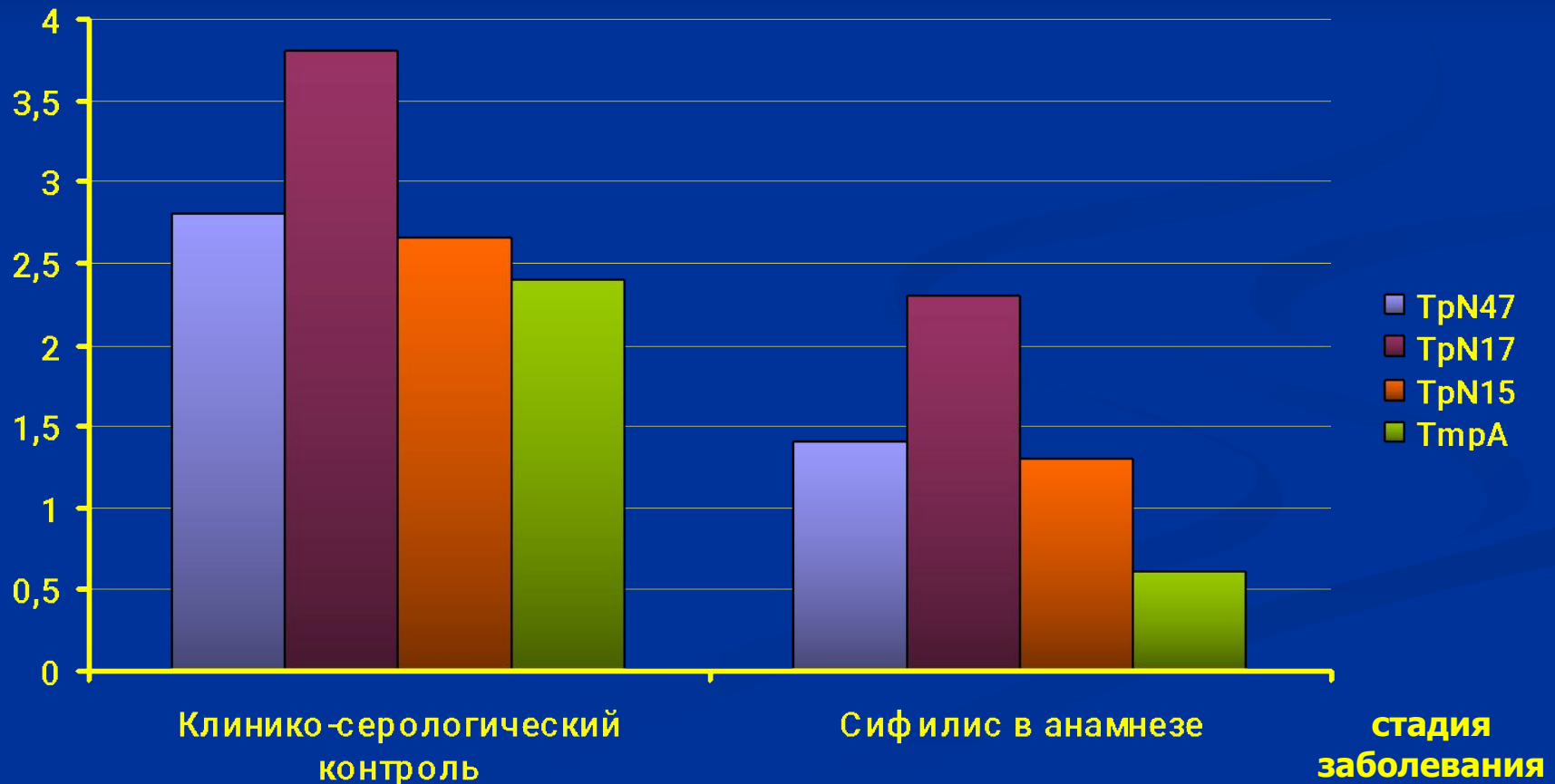
# Оценка интенсивности антителообразования к белкам *T.pallidum* у больных сифилисом

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.

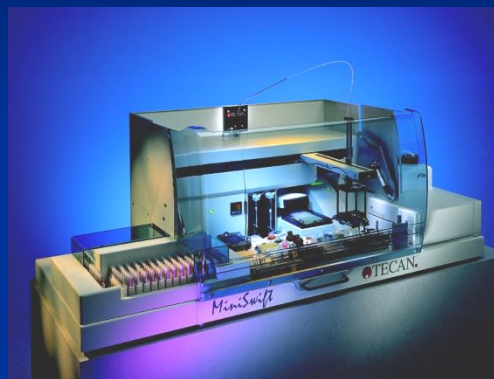
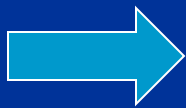


# Автоматическая станция ProfiBlot 48 для исследования в иммуноблоттинге



# Основные направления развития диагностики сифилиса

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



*Спасибо за  
внимание !*

