

Современная лабораторная диагностика гепатитов В, С, ВИЧ и сифилиса



Ракова Наталия Геннадиевна
доцент кафедры клинической лабораторной диагностики
ФГБОУ ДПО РМАПО МЗ РФ

19 мая 2017г
Казань

Вирусные гепатиты ежегодно уносят жизни 1,4 миллиона человек - больше, чем ВИЧ-инфекция и малярия, а также являются одними из основных причин развития цирроза и рака печени...



(из материалов 69-го заседания Всемирной ассамблеи здравоохранения, ВОЗ, 2016г.)

Вирусные гепатиты в России

■ Заметно снижается заболеваемость острыми парентеральными гепатитами:

■ ОВГ В в 1999г. - 43,5 на 100 000 населения
в 2012 – 2,7 (по сравнению с 2004г.

заболеваемость снизилась в 8 раз!)

ОВГ С 19,3 и 2,2 соответственно, что связано с введением обязательной вакцинации против ВГВ в Национальный календарь прививок (Приказ МЗ от 27.06.2001 № 229) и

профилактическими мерами в здравоохранении .



Вирусные гепатиты в России

- *Остается значительным распространение **ХГ**, цирроза и первичного рака печени*
- *Растет количество инфицированных **несколькими вирусами одновременно***





Торонтская декларация: всемирная стратегия контроля и элиминации вирусных гепатитов

**1-я международная конференция по лечению и эрадикации
вирусных гепатитов 5-6 ноября 2014 года, Торонто, Канада**

Гепатит В и Гепатит С Национальный план действий

Все страны должны разработать национальные и/или региональные планы действий в отношении ВГВ и ВГС с четко заявленными целями, критериями оценки и сроками реализации.



Глобальная стратегия по вирусному гепатиту 2016-2021 гг.

28 мая 2016 года 194 государства-члена ВОЗ единогласно приняли историческое решение - искоренить вирусные гепатиты к 2030 году.

В ходе 69-го заседания Всемирной ассамблеи здравоохранения - высшего руководящего органа ВОЗ - делегаты приняли "Глобальную стратегию по вирусным гепатитам". Главная цель Стратегии - полностью искоренить к 2030 году **вирусные гепатиты В и С** во всем мире. Кроме того, документ включает в себя ряд задач по профилактике и лечению вирусных гепатитов. В случае их выполнения количество смертельных исходов, вызванных вирусными гепатитами, сократится на 65 %, а охват лечением увеличится до 80 %. Таким образом, к 2030 году во всем мире будет спасено более 7 миллионов жизней.

Благодаря наличию вакцины и эффективных препаратов для терапии гепатита В, а также препаратов для полного излечения от гепатита С, цели, прописанные в стратегии, вполне достижимы.

Диагностика вирусных гепатитов

Эпидемиологический анамнез

Данные клинического обследования

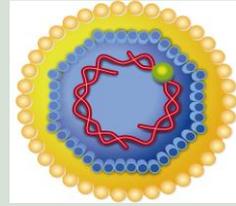
Определение биохимических показателей, морфологический анализ крови

Инструментальные методы обследования

Морфологическое исследование ткани печени

Выявление антигенов вирусов и антител к белкам возбудителя

Молекулярно-биологические методы выявления ДНК, РНК вирусов методом ПЦР, определение вирусной нагрузки, определение генотипа вируса, мутаций лекарственной устойчивости определение генотипа пациента



Гепатит В



Гепатит В.

Основной резервуар и источник инфекции – больные ОГВ и хронической HBV-инфекцией (вирусоносители и больные ХГВ)

Пути передачи:

- ❑ Половой
- ❑ Перинатальный
- ❑ Внутрибольничный
- ❑ Инвазивный
 - иглы наркоманов (IVDU)
 - гемодиализ
 - трансплантации
 - переливание крови или продуктов крови
 - акупунктура, татуировки, пирсинг
- маникюр и педикюр



Гепатит В- самый контагиозный

- *Для заражения достаточно 1 вирусной частицы в 1 мл крови.*
- *HBV очень устойчив, в сыворотке при комнатной температуре – 3 месяца, в высушенной плазме – до 25 лет*

Инактивируется при автоклавировании через 45 минут и при стерилизации при +160 C°.



Гепатит В

• По последним оценкам ВОЗ, ежегодно регистрируется около 4 млн. случаев ОГ В с клиническими проявлениями



У 70% взрослых и 90% детей ОГ В протекает без желтухи или в других трудно-диагностируемых клинических формах

• ОГ В «молодеет» - доля лиц 15-29 лет составляет 60-85% от всех случаев ОГ В за счет наркоманов и рискованного сексуального поведения



Что и зачем определяем?

ДНК ВИРУСА (качественно, вирусную нагрузку, генотип, мутации лекарственной устойчивости)

(HBV DNA)

ПОВЕРХНОСТНЫЙ АНТИГЕН

(HBsAg)

АНТИТЕЛА К ПОВЕРХНОСТНОМУ АНТИГЕНУ

(anti-HBs)

АНТИТЕЛА К СЕРДЦЕВИДНОМУ АНТИГЕНУ

(anti-HBc)

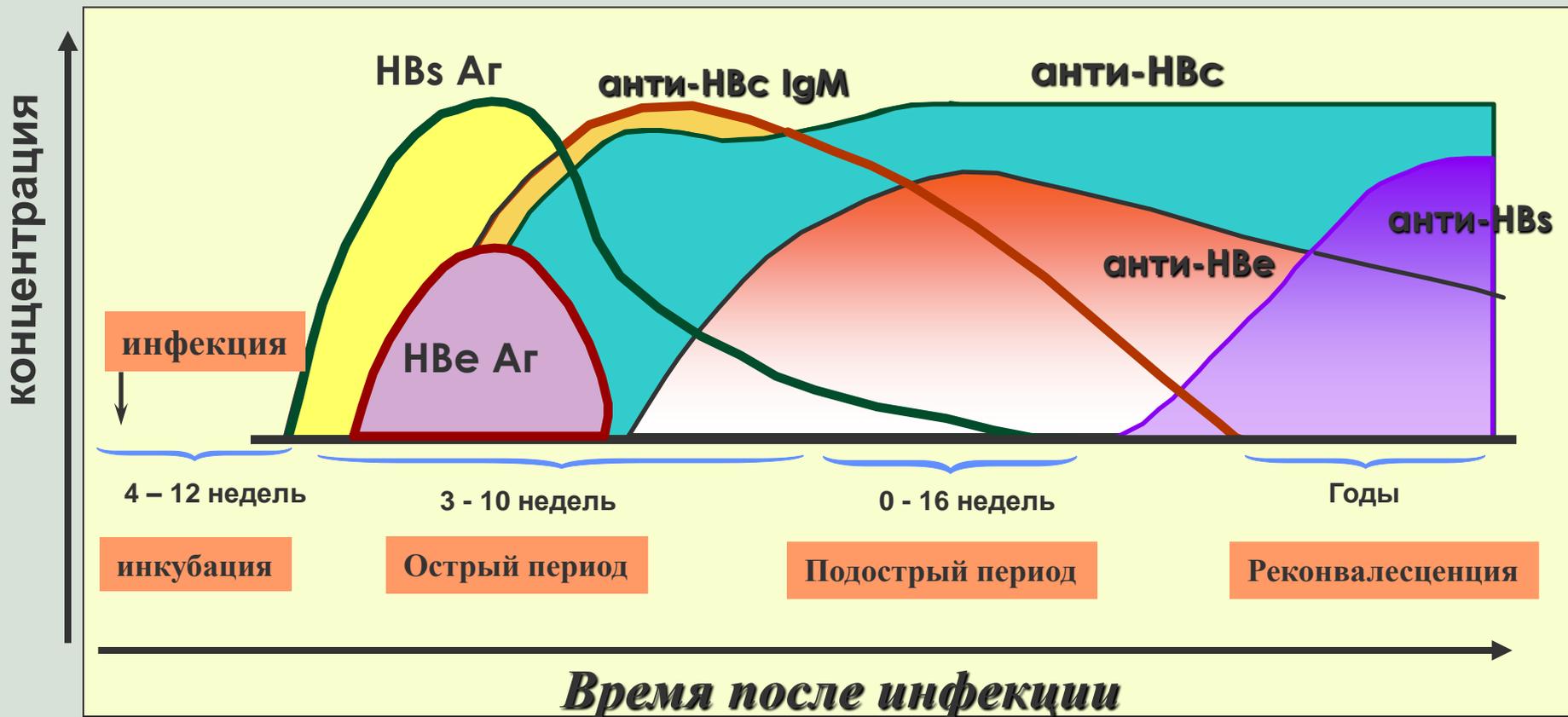
«АНТИГЕН ИНФЕКЦИОННОСТИ»

(HBeAg)

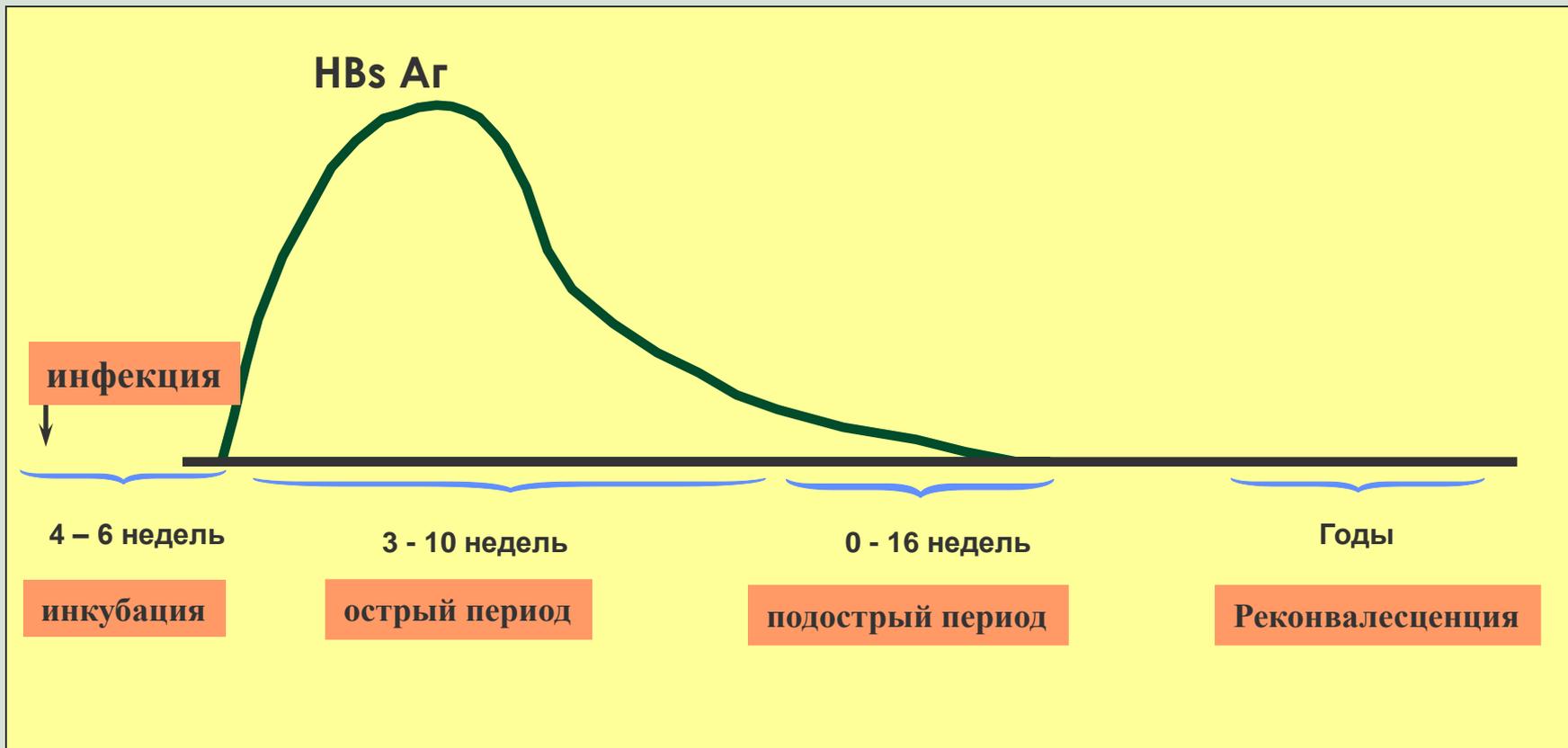
АНТИТЕЛА К «АНТИГЕНУ ИНФЕКЦИОННОСТИ»

(anti-HBe)

Серологическая картина гепатита В: острая форма



Гепатит В: маркеры- **HBs Ag**



Гепатит В: маркеры

HBs Ag

- Самый ранний маркер острой инфекции, один из показателей хронической инфекции и **бесспорное доказательство наличия инфекции ВГВ.**
- Определяется в сыворотке чрез 4-6 недель от инфицирования
- Исчезает в течение 3 месяцев после ОГВ → выздоровление
- Персистенция свыше 6 месяцев от начала клинических проявлений → хронизация

Количественное определение HBs Ag не включено в практические рекомендации по лечению ХГВ, но известно, что динамика снижения маркера связана с вероятностью достижения УВО при лечении ПЕГ-ИФН.

Гепатит В: маркеры

HBs Ag

Чувствительность наборов - **различная**: 0,01 - 0,1 нг/мл
(МЕ/мл)

Способность выявлять мутантные формы - **различная**

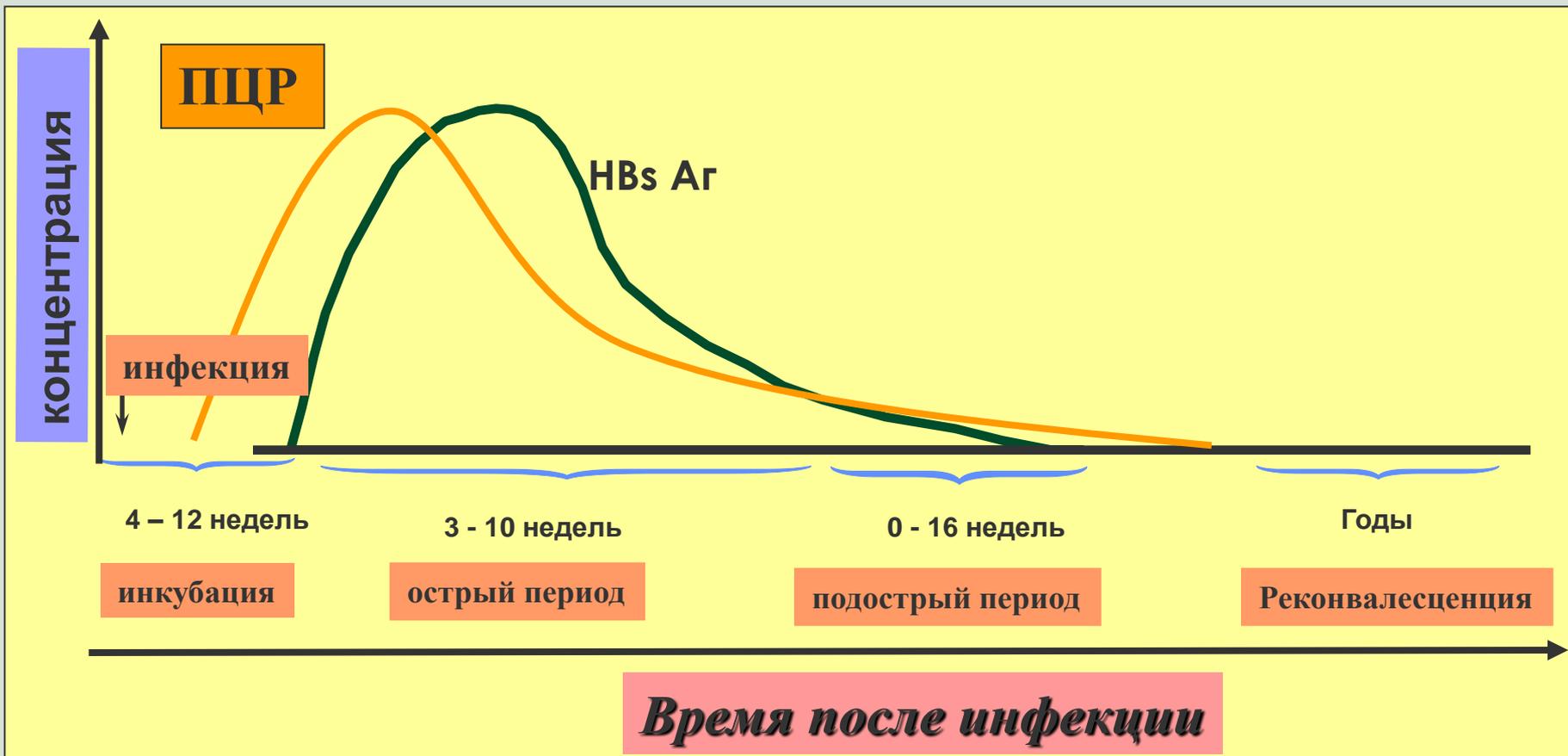
Выявление HBs Ag включает исследование с использованием двух наборов - скринингового и подтверждающего:

«**HBs Ag - обнаружен**» – только по положительному результату подтверждающего набора.

HBs Ag не удается детектировать:

- «Серологическое окно»
- Мутантный штамм ВГВ по HBsAg
- «occult» hepatitis B (HBsAg не выявляется, **ДНК +** в плазме крови или ткани печени)

Гепатит В: маркеры - ДНК ВГВ



Гепатит В: маркеры

ДНК ВГВ (Вирусная ДНК гепатита В)

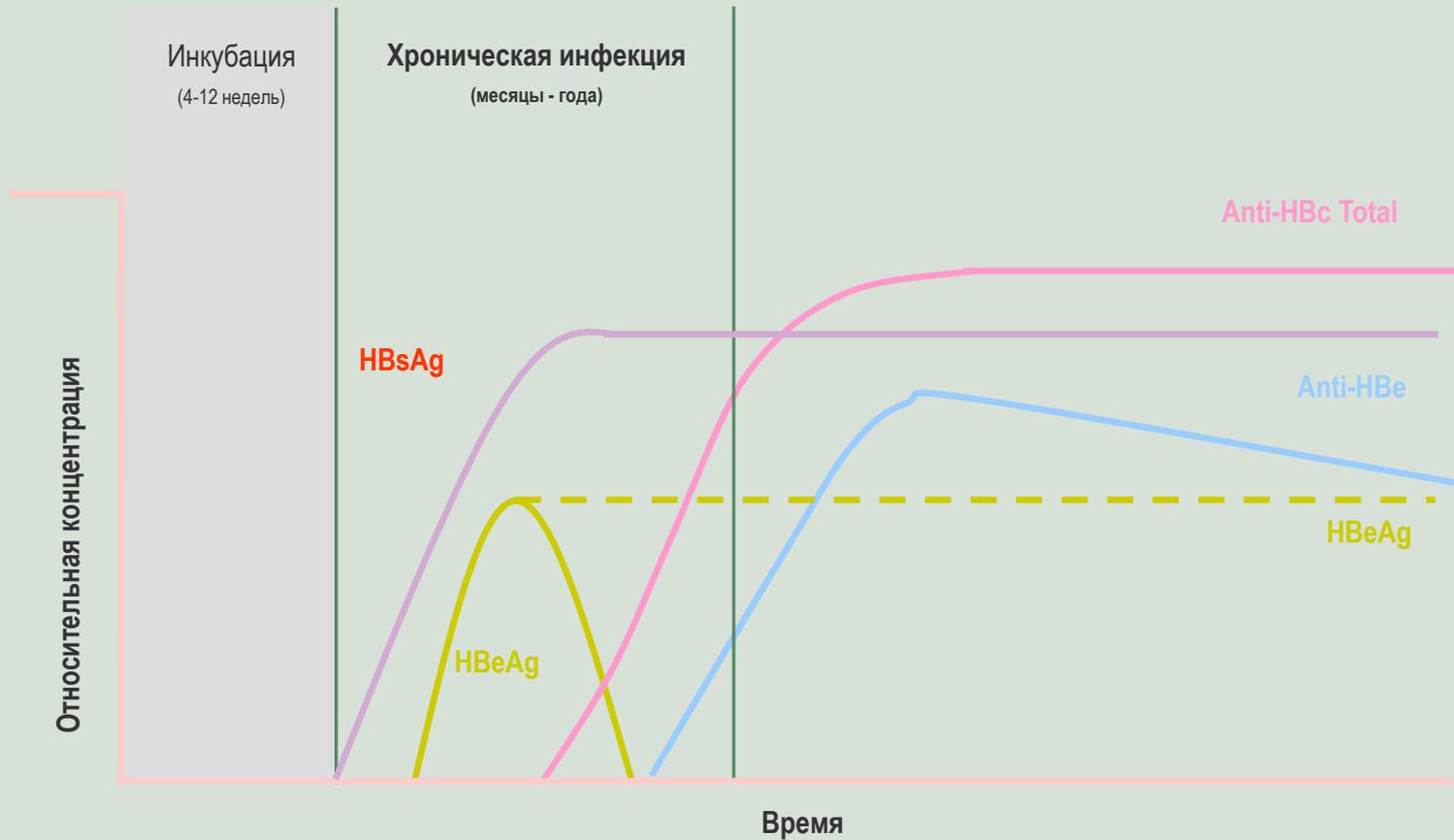
- **Выявление ДНК ВГВ в плазме – доказательство инфицированности ВГВ**
- **Количественно (чувствительность не ниже 20 МЕ/мл) - для оценки ВО при лечении аналогами нуклеозидов или нуклеотидов на 48 неделе)**
- **Определение генотипа – эпид.исследования, прогноз эффективности терапии ИФН.**
- **Определение мутаций устойчивости вируса к противовирусным препаратам.**

Признак хронической инфекции ГВ -
выявление HBsAg в сыворотке крови 6 или
более месяцев.

Клинически значимые стадии хронической инфекции ГВ:

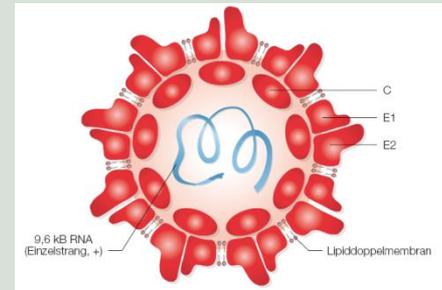
- Иммунная толерантность
- Неактивное носительство ВГВ
- Хронический ГВ (HBeAg-позитивный и HBeAg-негативный)

Серологическая диагностика гепатита В (хроническая инфекция)



Критерии инфекции ВГВ

Маркер	ОГВ	Перенесенный ОГВ	Иммунитет после вакцин.	Иммунная толерантность	ХВГ НВе Аг- позитивный	ХВГ НВе Аг- негативный	Носитель ВГВ
HBs Ag	+	-	-	+	+	+	+
Анти-HBs	-	+	+	-	-	-	-
Анти-HBc IgG	+	+	-	+	+	+	+
Анти-HBc IgM	+	-	-	-	-	-	-
НВе Аг	+/-	-	-	+	+	-	-
Анти-НВе	-/+	+	-	-	-	+	+
ДНК HBV	+	-	-	++	+	+	+/-
АЛТ	↑	норма	норма	норма	↑	↑/ норма	норма



Гепатит С



Вирус гепатита С – Пути передачи

□ Внутрибольничный

□ Инвазивный

- иглы наркоманов (IVDU)
- гемодиализ
- укус инфицированного человека
- трансплантация
- переливание крови или продуктов крови (риск в Европе < 1 : 5 млн)
- акупунктура, татуировки, пирсинг, маникюр, педикюр

□ Половой (?)

□ Вертикальный (редко)

www.who.int
www.cdc.gov



Структура вероятных путей передачи вируса гепатита С в Российской Федерации



Из доклада
М.И. Михайлова, 2017

Гепатит С

• В разных странах от 1 до 5% населения поражены вирусом гепатита С.

Это около 130-150 млн. человек в мире. *

• В России частота встречаемости инфекции HCV составляет около 4,5 %, 1,5-3 млн. больных ХГ С.

• Среди ХЗП вирусный гепатит С стоит на втором месте (после ХГ В). *

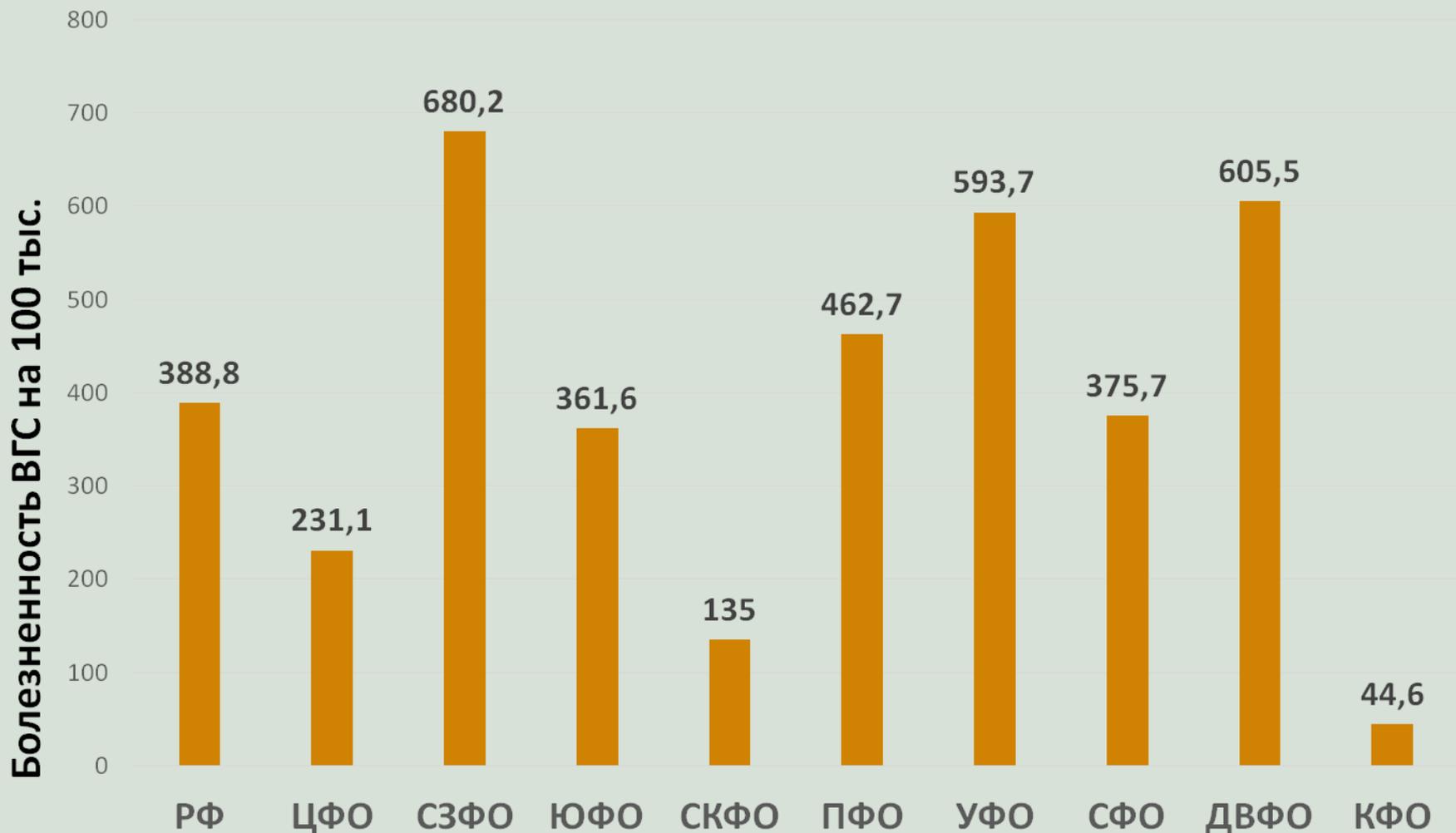
• Частота формирования ХГ С после острого составляет около 60-85%.

• Риск развития цирроза составляет 15-20% в течение 20 лет, риск гепатокарциномы в этой группе – 2-4% в год. **

• ВОЗ: Глобальная стратегия по вирусному гепатиту 2016-2021 гг.

** Отчет ВОЗ, 2017

Показатели болезненности хроническим гепатитом С по федеральным округам (2015г.)



Из доклада
М.И. Михайлова, 2017

Вирус ВГС

- 7 генотипов
- 80 субтипов
- ~8 межгенотипных рекомбинантов
- ~7 межсубтипных рекомбинантов
- ТЫСЯЧИ квазивидов в инфицированном организме (генетически разнородные, но близкие варианты, различия в нуклеотидной последовательности которых составляют несколько процентов)

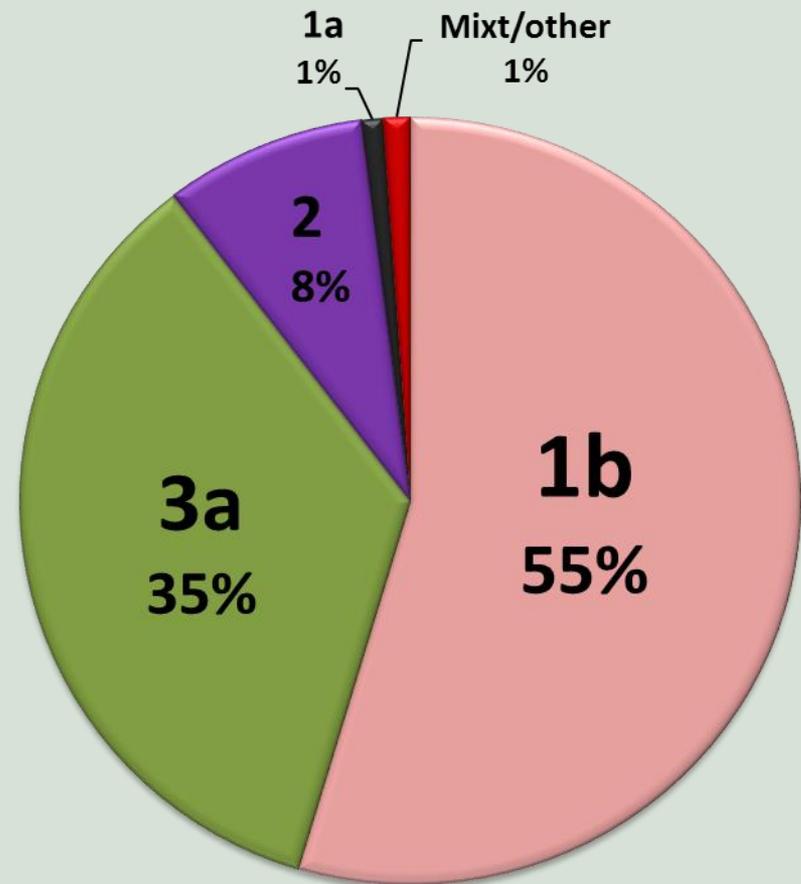
К факторам обуславливающим такое генетическое разнообразие, относится высокая частота мутирования (из-за отсутствия у полимеразы вируса корректирующей способности), селективное давление организма хозяина и процесс рекомбинации.

Усредненный показатель распространенности генотипов ВГС в РФ

Дальний Восток- **1b**
доминирующий генотип
Западная часть РФ - **3a**
доминирующий генотип

1b и **2a** характерны для
пациентов гемодиализа и лиц с
переливанием крови в анамнезе

3a и **1a** характерны для
циркуляции среди потребителей
инъекционных наркотиков
(ПИН)



МАРКЕРЫ ВГС

РНК ВИРУСА

(HCV RNA)

*Core-АГ ВГС**

АНТИТЕЛА К ВИРУСУ IgM

*(anti HCV IgM)**

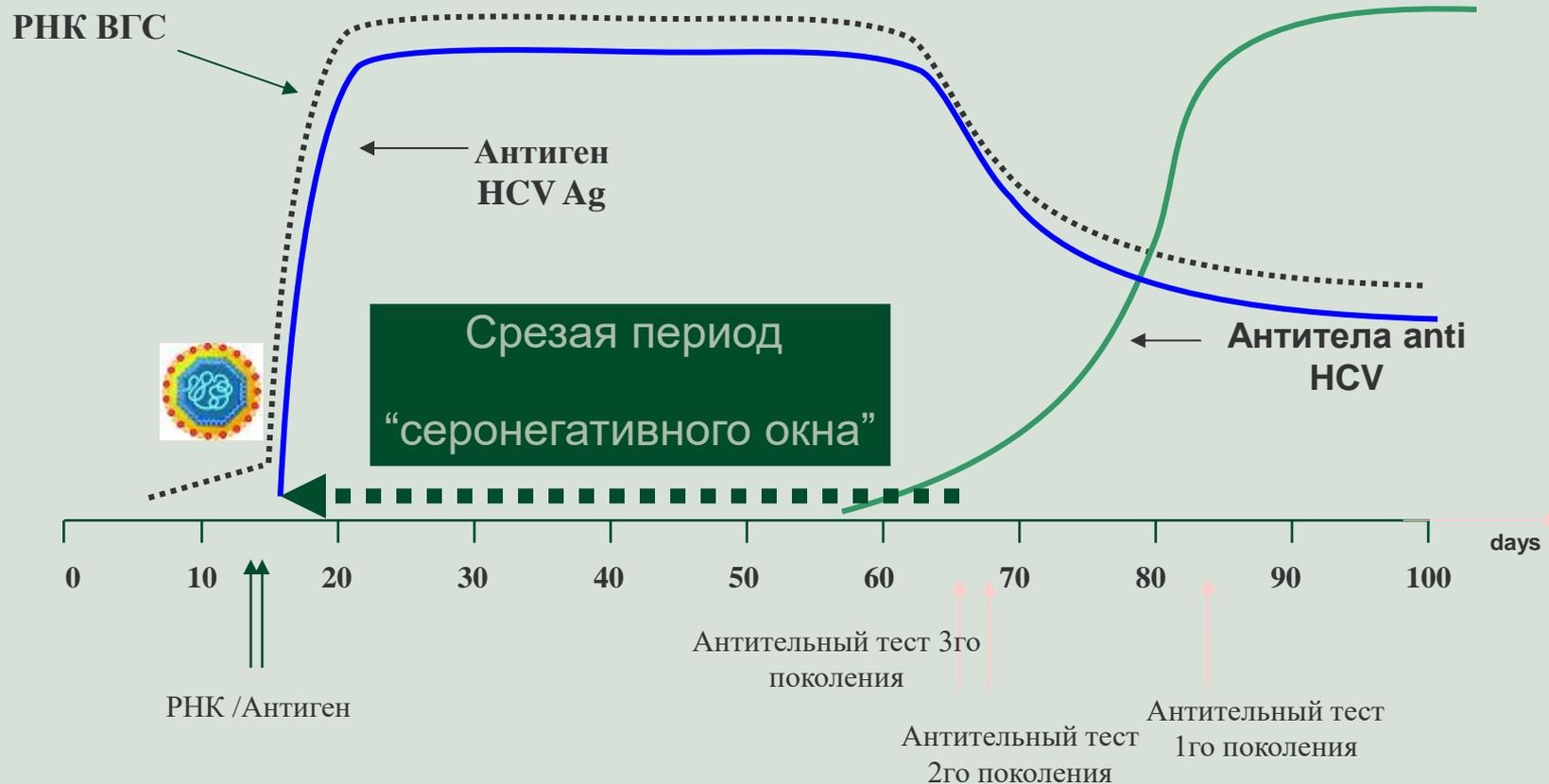
АНТИТЕЛА К ВИРУСУ IgG

(anti HCV IgG)

** не входят в современные **российские** рекомендации, в Европе
рекомендован для определения **HCV Core-Ag** (EASL Recommendations on
Treatment of Hepatitis C 2016)*

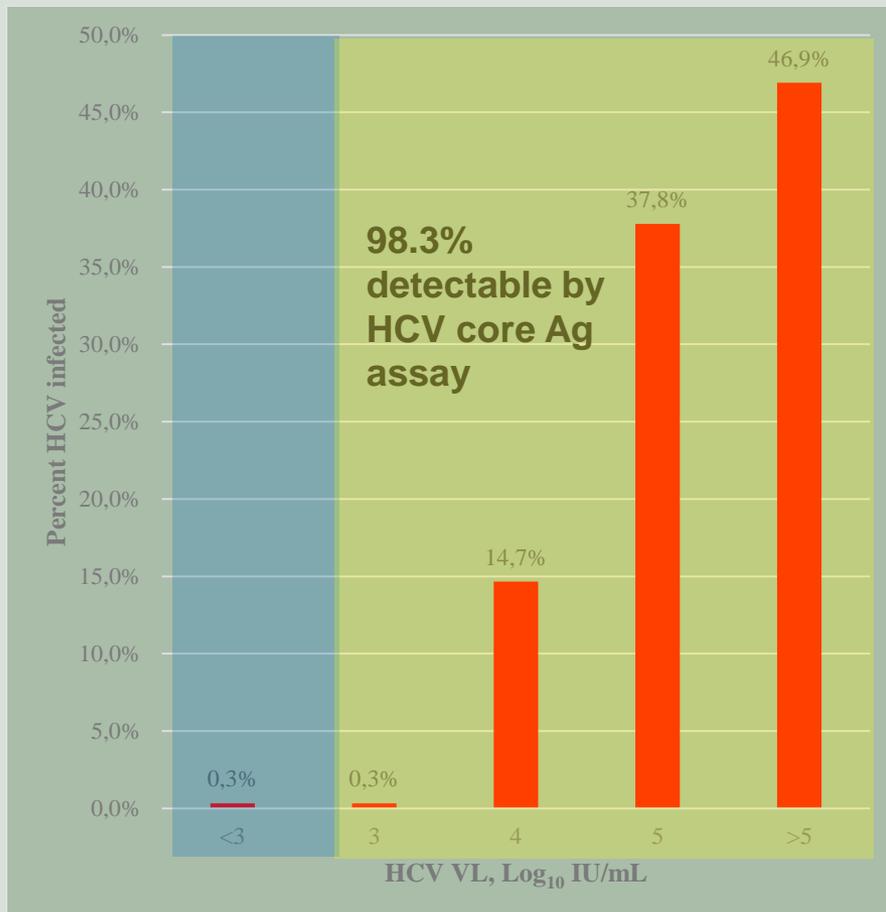
Гепатит С – РНК, антитела и антигены в крови

Схематическое изображение сероконверсии ВГС: Антиген ВГС и РНК ВГС снижаются с течением времени после резкого подъема. Антитела Anti HCV возрастают на 60-70 день инфекции и остаются на несколько лет в зависимости от иммунной системы пациента.



Note: This is a graphic representation of markers profile in HCV infection

Возможность применения HCV core Ag для скрининга и мониторинга терапии 2015-2016 (опыт Грузии)



1st Nationally Representative HCV Serosurvey

- N=307
- **Совпадение результатов HCV core Ag / HCV NAT : 98.3%**
- Удобство применения для скрининга
- Потенциально ~50% экономичнее по сравнению с NAT-тестом

Другое крупное полевое исследование NCDC, неоконченное

- Скрининговая программа: N~4000
 - **Совпадение результатов HCV core Ag / HCV NAT : 97%**
- Мониторинг терапии: N~250
 - Исследование продолжается

Submitted 2 abstracts to EASL 2017

Основным скрининговым тестом на ГС является выявление анти-ВГС методом ИХА (ИФА).

Однако, многообразие проявлений ВГС-инфекции не позволяет проводить диагностику заболевания **только по наличию АТ**

- **Анти –ВГС не определяются :**
 - ✓ *при ОГС (фаза «окна»);*
 - ✓ *у больных, получающих иммуносупрессивную терапию, с тяжелыми иммунодефицитами*
- **Наличие анти-ВГС не является доказательством наличия инфекции:**
 - ✓ *у новорожденных (от инфицированных ВГС матерей);*
 - ✓ *у части инфицированных (15-25%) возможна спонтанная элиминация вируса (но анти-ВГС после элиминации сохраняются в течение 4-8 и более лет);*
- **определение показаний к терапии и мониторинг ее эффективности основывается на результатах ПЦР (вирусная нагрузка, генотип)**

Основные действующие в РФ документы по гепатитам:

1. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ ГЕПАТИТОМ С

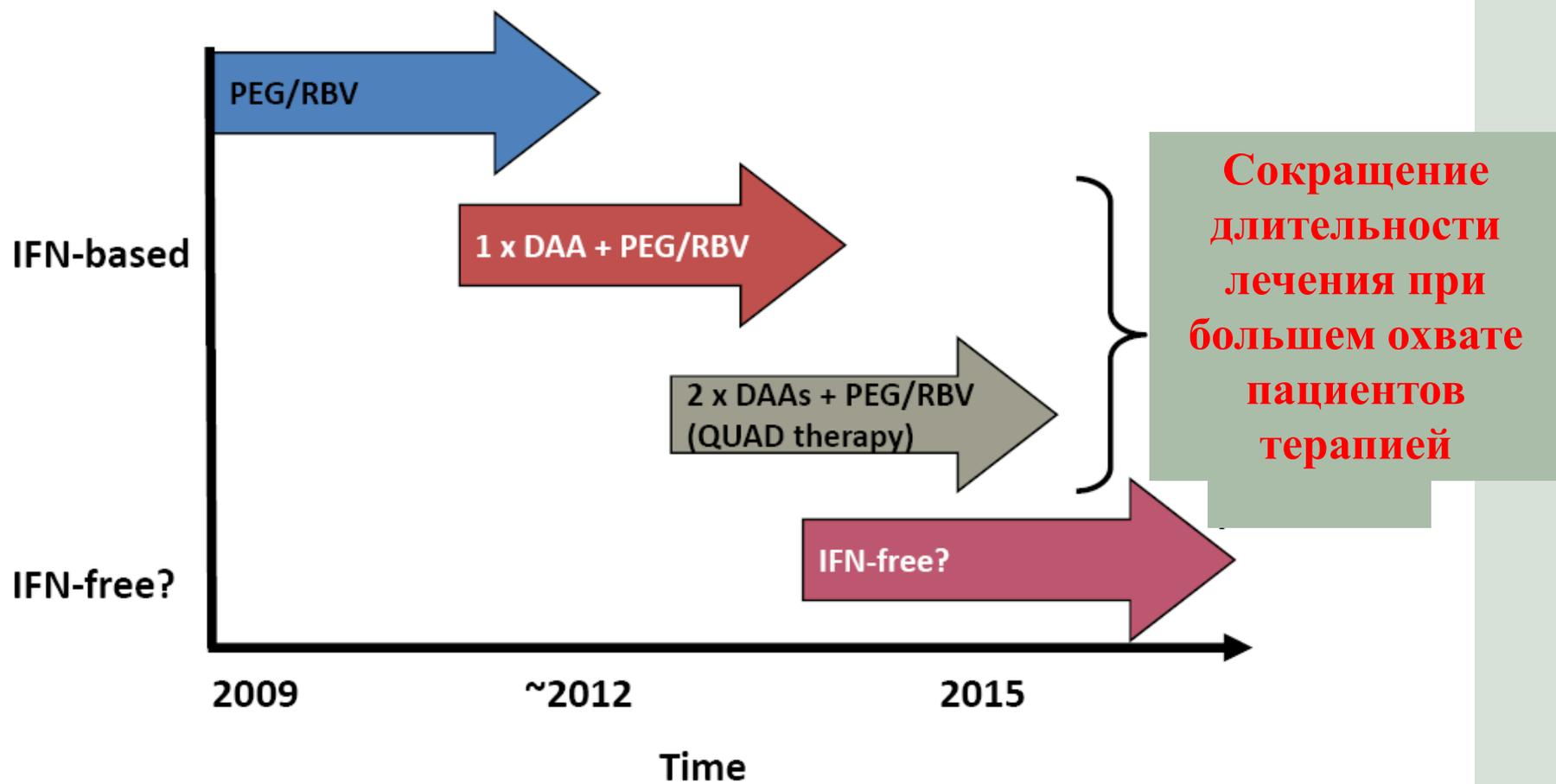
Настоящие рекомендации разработаны в соответствии с поручением Министра здравоохранения Российской Федерации от 6 августа 2012 г. № 68 экспертной группой по вопросам вирусных гепатитов)

2. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 22.10.2013 N 58

"Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3112-13 "Профилактика вирусного гепатита С« (вместе с "СП 3.1.3112-13. Санитарно-эпидемиологические правила...")

(Зарегистрировано в Минюсте России 19.03.2014 N 31646)

Эволюция терапии хронического гепатита С



НОВЫЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ЛЕЧЕНИЮ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С (HCV) - EASL 2016

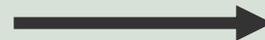
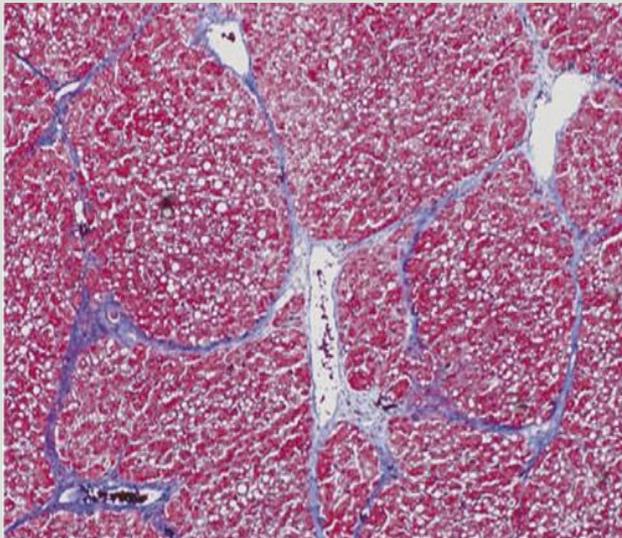
EASL (Европейская ассоциация по изучению печени) на специальном заседании в Париже приняла **новые рекомендации по лечению вирусного гепатита С (HCV)**. В обновлённые рекомендации по лечению гепатита С вошли схемы двумя новыми противовирусными препаратами: элбасвир+гразопревир (торговое название Zepatier) и софосбувир + велпатасвир (торговое название Epclusa).

Важно. Обновленное руководство по лечению гепатита С больше не предусматривает терапию ВГС схемой, включающей пегилированный интерферон. Это значит что в Евросоюзе больше не будет применяться интерфероновая терапия. Так же из руководства были исключены схемы терапии на основе одного препарата.

В обновленном руководстве EASL 2016 представлены рекомендации по лечению гепатита С для тех, кто прошёл неудачную интерфероновую терапию.

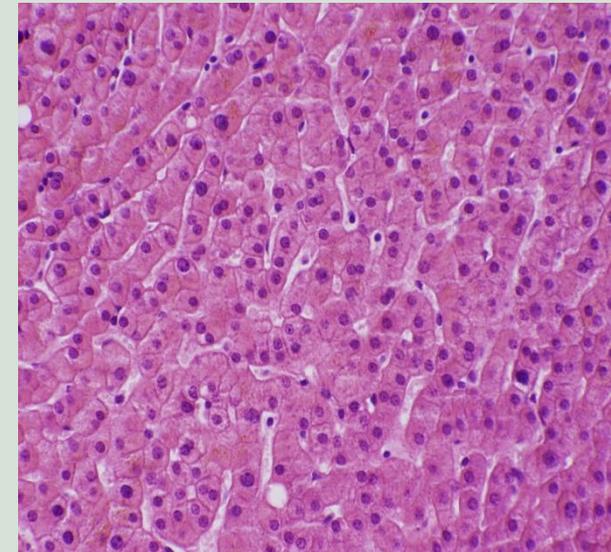
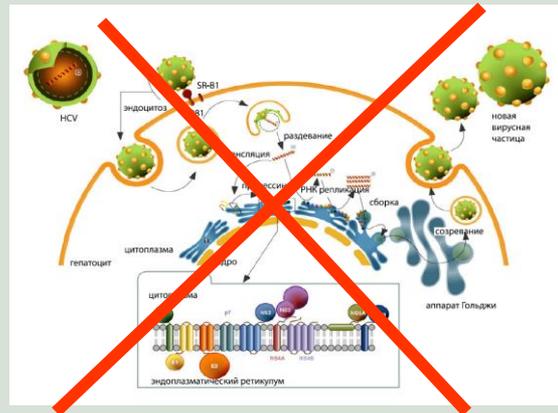
Существуют доказательства элиминации вируса из организма человека и возврат к норме морфологии ткани печени после успешной противовирусной терапии

Фиброз 4 стадии
(цирроз)



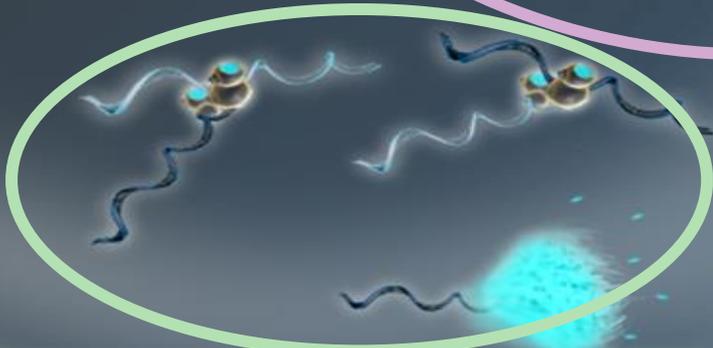
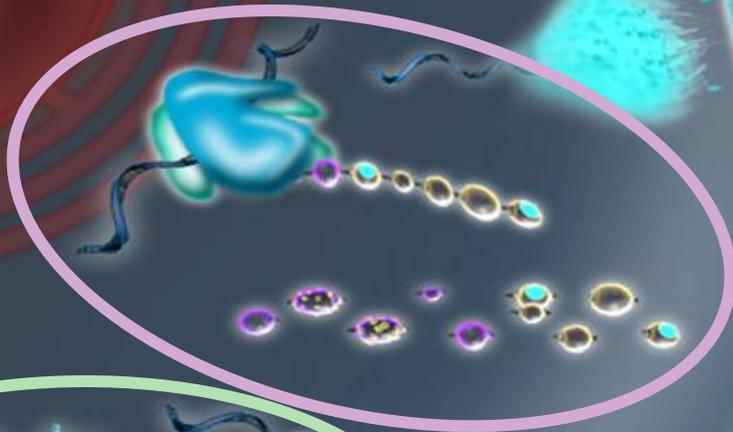
Нормальная ткань печени

Блок репликации
вируса

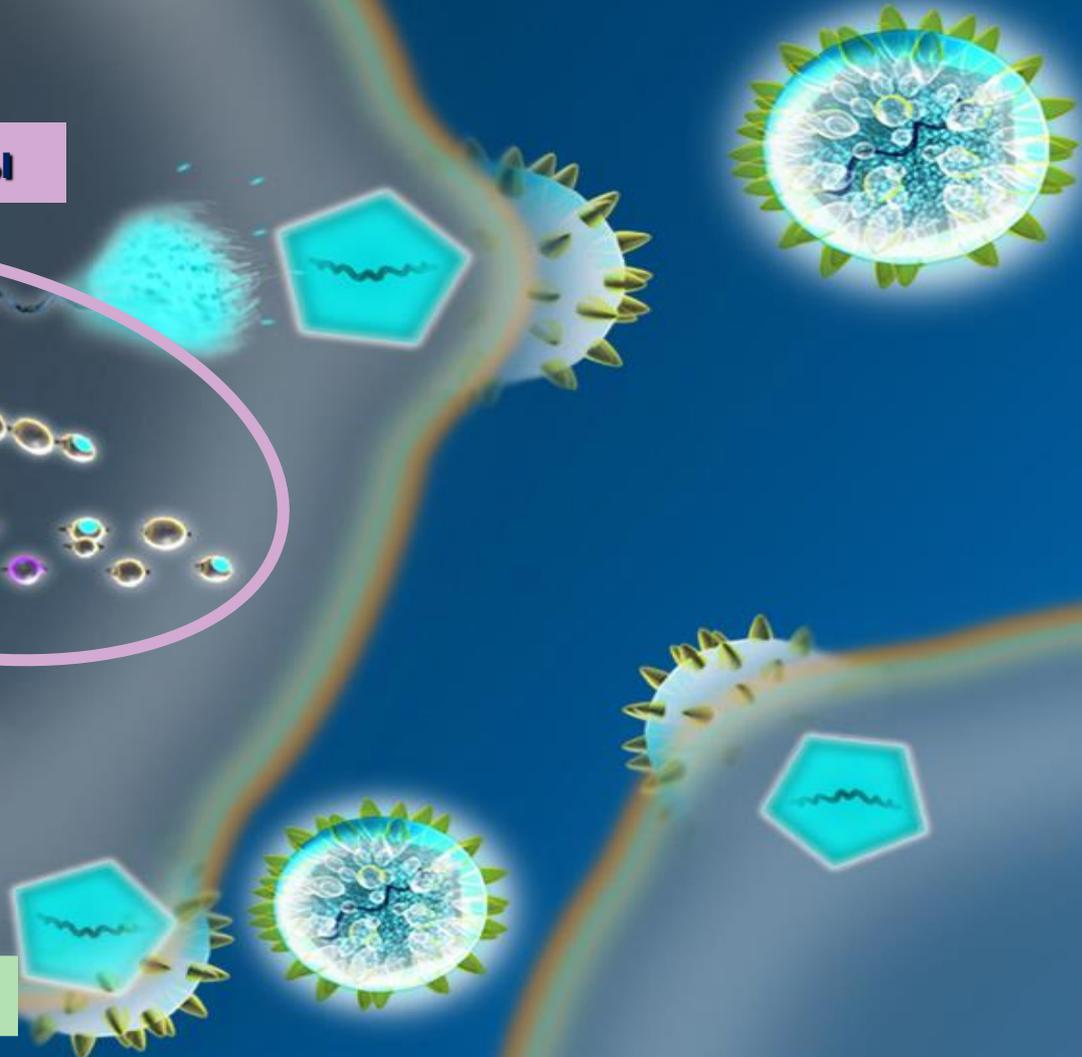


Специфические препараты для лечения гепатита С (Specifically Targeted Antiviral Therapies for HCV (STAT-C), противовирусные препараты прямого действия (ППД) (DAA, direct-acting antiviral)) – действуют непосредственно на вирус

Ингибиторы протеазы



Ингибиторы полимеразы



С весны 2014 года в России под торговой маркой «Совриад» продается Simeprevir ,

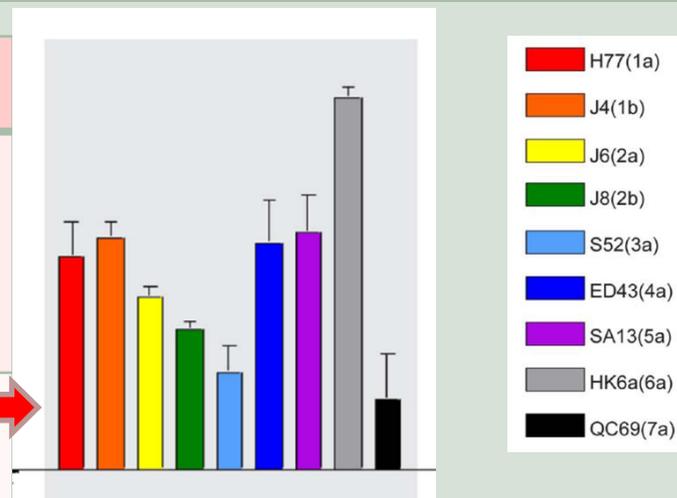
21 апреля 2015 года был зарегистрирован трехкомпонентный препарат «ViekiraPak».

«По оценочным данным экспертов, при формировании федерального бюджета только на лечение вирусных гепатитов В и С необходимо выделять порядка 80 млрд. руб. в год. Учитывая текущий уровень благосостояния населения, позволить себе лечение хронического гепатита В может всего 4% населения, а хронического гепатита С всего 1,5%...»

Круглый стол «Обеспечение доступности лечения хронических вирусных гепатитов для граждан Российской Федерации. Правовые аспекты». Гос. Дума, 23.03.2015

Кандидатные профилактические вакцины против ВГС

Методология	Иммуноген и адьювант	Фаза испытаний
Вирусный пептид	Core ISCOMATRIX TM	Фаза I Рандомизированное, слепое, плацебо-контролируемое исследование, 30 здоровых добровольцев
Субъединичные вирусные частицы	E1-E2 MF59C.1	Фаза I Рандомизированное, слепое, плацебо-контролируемое исследование, 60 здоровых добровольцев
Аденовирусный вектор	NS3-5Bmut	Фаза I 40 здоровых добровольцев
Аденовирусный вектор	NS3-5B	Фаза I Рандомизированное, слепое, плацебо-контролируемое исследование Фаза I: 60 здоровых добровольцев Фаза II: 276 добровольцев
Виросома	Синтетические пептиды на основе core ВГС в вирсоме	Фаза I Рандомизированное, слепое, плацебо-контролируемое исследование, 60 здоровых добровольцев



Сыворотка иммунизированных добровольцев нейтрализует все 7 основных генотипов ВГС в клеточной культуре

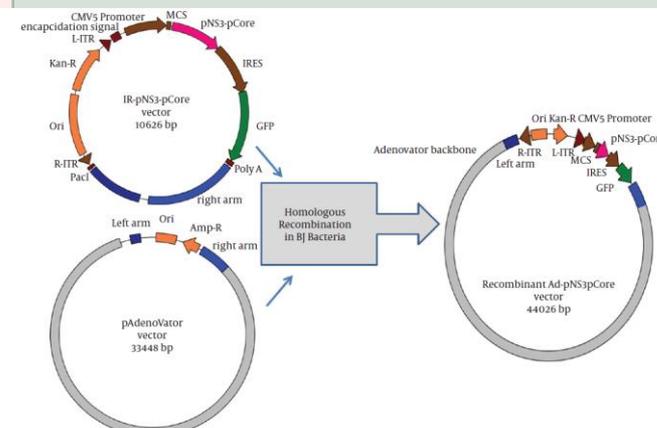
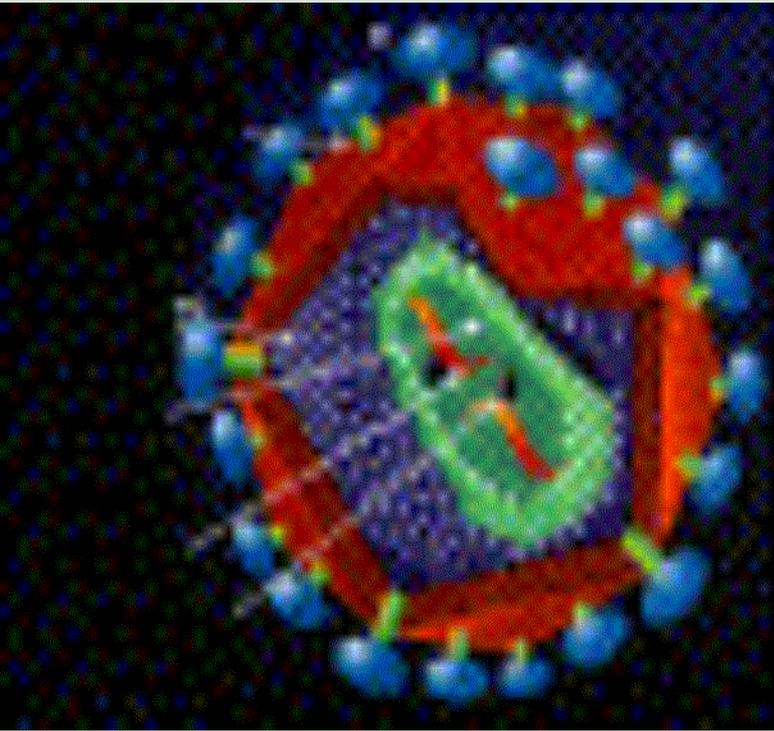


Схема конструирования аденовирусных векторов, несущих последовательности ВГС

ВИЧ-инфекция



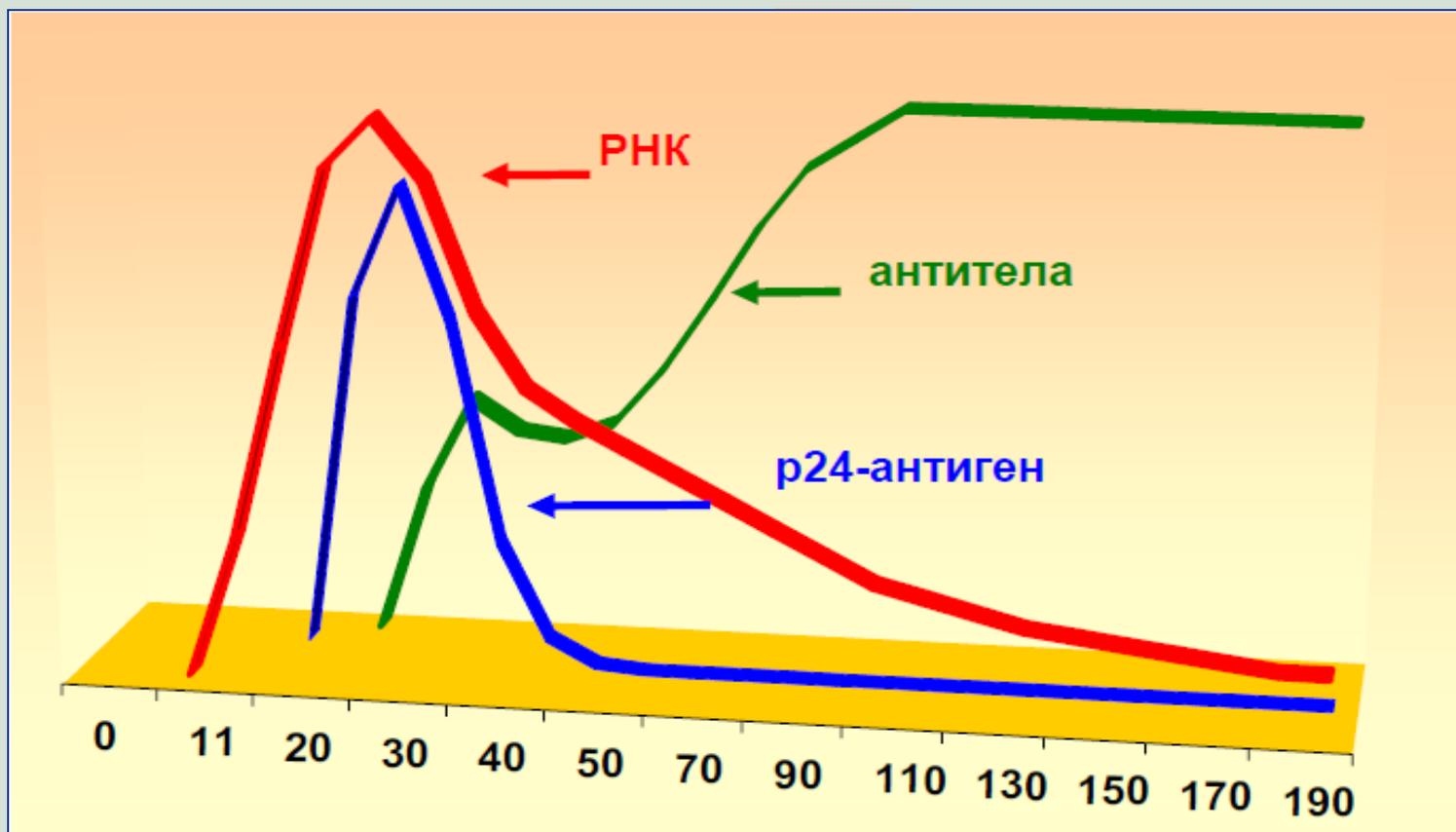
Схематическое строение ВИЧ

- Трансмембранный gp41/36
- Эпимембранный gp120/105
- Матриксный каркас P 17
- Оболочка нуклеоида P24
- 2 одноцепочечные РНК
- Серцевина нуклеоида P7 и P9
- Комплекс ферментов: обратная транскриптаза, интеграз, РНКазы, протеаза

Генетическая организация ВИЧ-1

- Ген env (envelope) – gp160=gp41+gp120 – **антигены оболочки**
- Ген gag (core) – P24, P17, P7, P9 – **группоспецифические антигены**
- Ген pol – **обратная транскриптаза P64, протеаза P52, РНКаза P15**
- **Регуляторные гены:** ген трансактивирующего фактора, ген-регулятор вируса, ген – негативный регуляторный фактор, ген-фактор инфекционной способности вируса, ген-активатор транскрипции и т.д.

Ранние лабораторные маркеры ВИЧ-инфекции



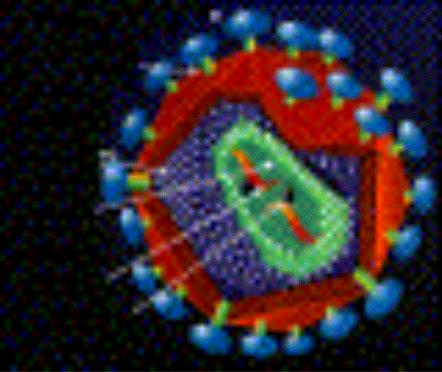
Нормативная документация

Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 11 января 2011г. N 1 г. Москва "Об утверждении СП 3.1.5.2826-10

"Профилактика ВИЧ-инфекции"



В СП 3.1.5.2826-10
«ПРОФИЛАКТИКА ВИЧ-ИНФЕКЦИИ»
ВНЕСЕНЫ СУЩЕСТВЕННЫЕ
ИЗМЕНЕНИЯ

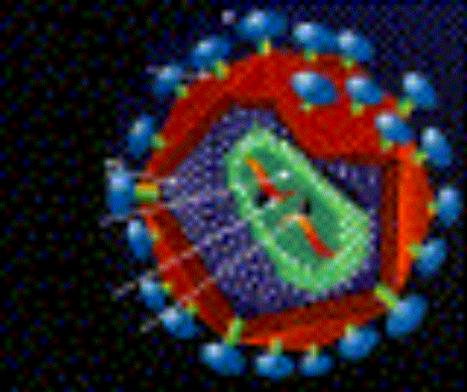


Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции (в ред. Изменений N 1, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 21.07.2016 N 95)

**Два этапа – скрининг и подтверждение результатов
скрининга**

СКРИНИНГ:

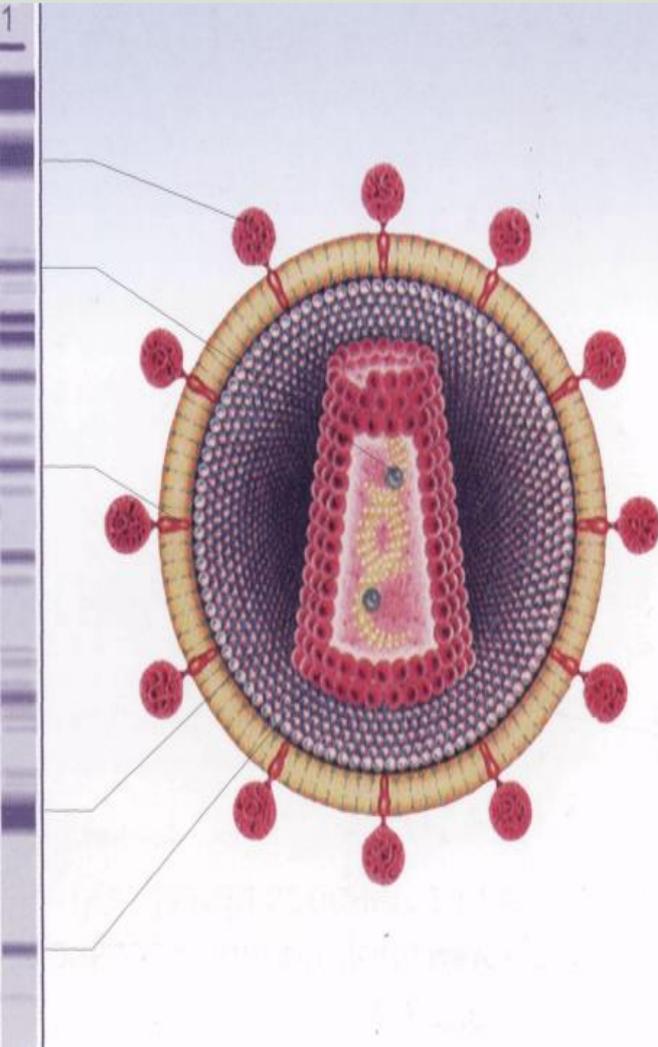
- **одновременное выявление AgP24 и суммарных антител (IgM, IgG) к ВИЧ (ИФА, ИХЛА).**
- Положительный результат - последовательно ещё два исследования (с той же сывороткой и в той же тест системе)
- Если получены два положительных результата из трех – сыворотка первично положительная.
- Направляется в референс-лабораторию



Референсное исследование: одновременное выявление Ag P24/25 и суммарных антител (IgM, IgG) к ВИЧ

- Первично положительная сыворотка повторно исследуется в ИФА во второй тест-системе **другого производителя, отличающейся от первой по составу антигенов, антител или формату тестов**, выбранной для подтверждения. При получении отрицательного результата сыворотка повторно исследуется **в третьей тест-системе другого производителя**, отличающейся от первой и второй по составу антигенов, антител или формату тестов.
- В случае получения **отрицательного результата (во второй и третьей тест-системах) выдается заключение об отсутствии антител к ВИЧ.**
- При получении **положительного результата** (во второй и/или третьей тест-системе) сыворотку необходимо исследовать в иммунном или линейном **блоте.**

Иммунный блоттинг

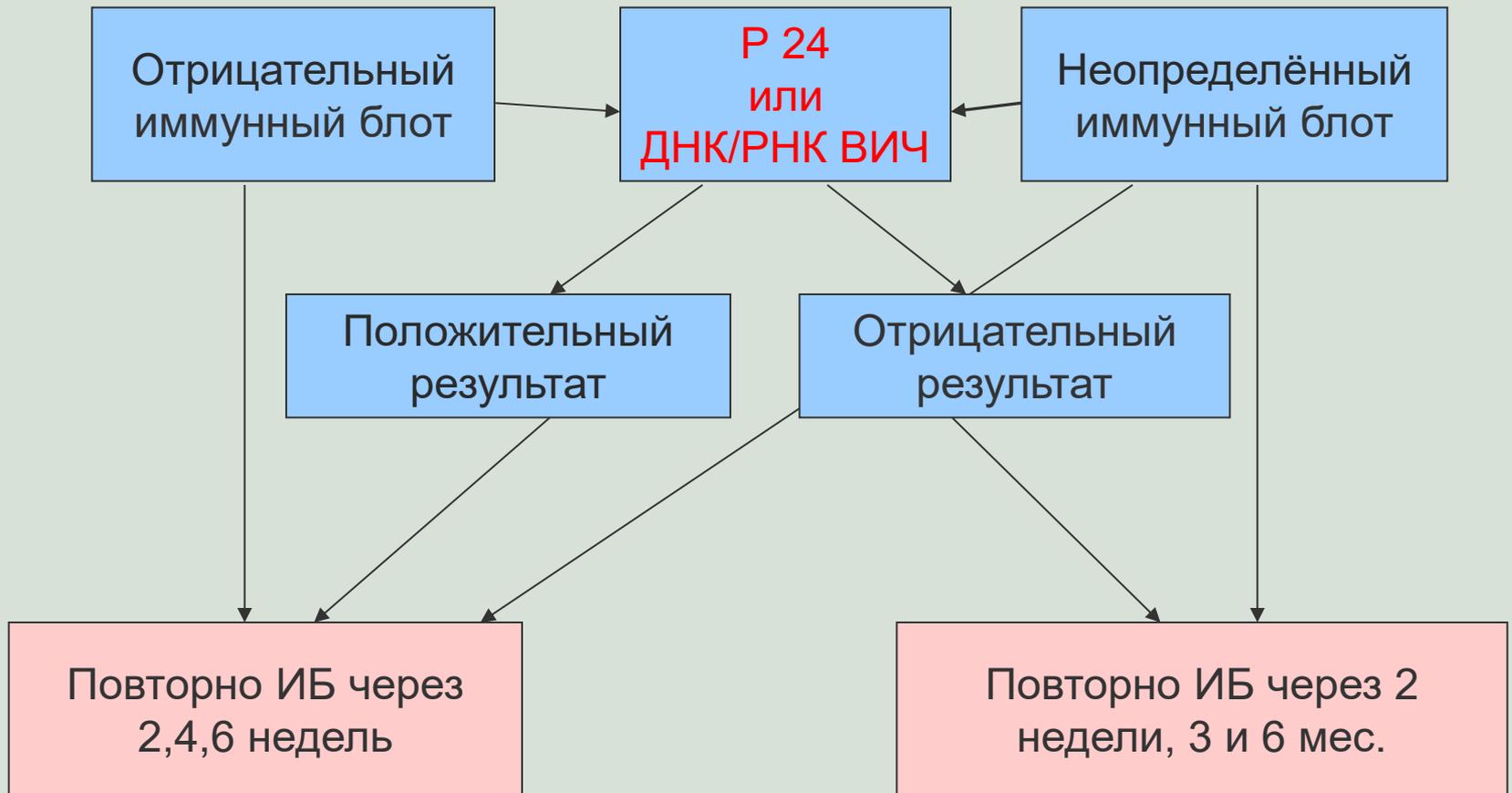


Группа белков	ВИЧ-1	ВИЧ-2
Белки оболочки env	gp 160, gp120, gp41	gp 140, gp105, gp 36
Белки сердцевины gag	p 55, p 24, p17	p 56, p26, p18
Ферменты вируса pol	p 66, p51, p31	p 68

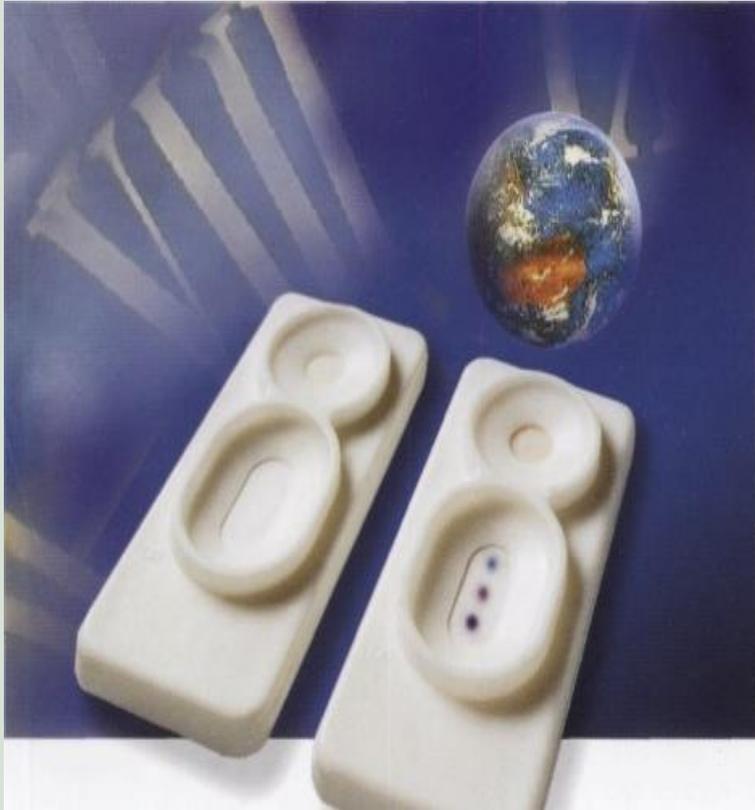
Интерпретация результатов иммунного/линейного блоттинга

- **Положительный** - наличие антител к 2 из трех гликопротеинам ВИЧ (env, gag, pol).
- **Отрицательный** - отсутствие антител к антигенам (белкам) ВИЧ или имеется слабое реагирование с белком p 17.
- **Неопределенный** – наличие антител к одному гликопротеину ВИЧ и/или каким-либо протеинам ВИЧ. Если присутствуют белки сердцевины (gag) p25, проводится исследование для диагностики ВИЧ-2.

Алгоритм тестирования при отрицательном или сомнительном результате иммунного/линейного блоттинга



Экспресс-тесты



10-минутный экспресс-тест для одновременного скрининга и дифференцирования между ВИЧ1 и ВИЧ2-антителами в сыворотке или плазме человека.

Рекомендован для экспресс-анализа, согласно приказу МЗ РФ №292 от 30.07.01

Области применения простых/быстрых тестов

- трансплантология - перед забором донорского материала;
- донорство - обследование крови, в случае экстренного переливания препаратов крови
- вертикальная профилактика - тестирование беременных женщин с неизвестным ВИЧ-статусом в предродовом периоде (для назначения медикаментозной профилактики ВИЧ-инфекции в родах);
- постконтактная профилактика - ВИЧ - тестирование на ВИЧ в случае аварийной ситуации.

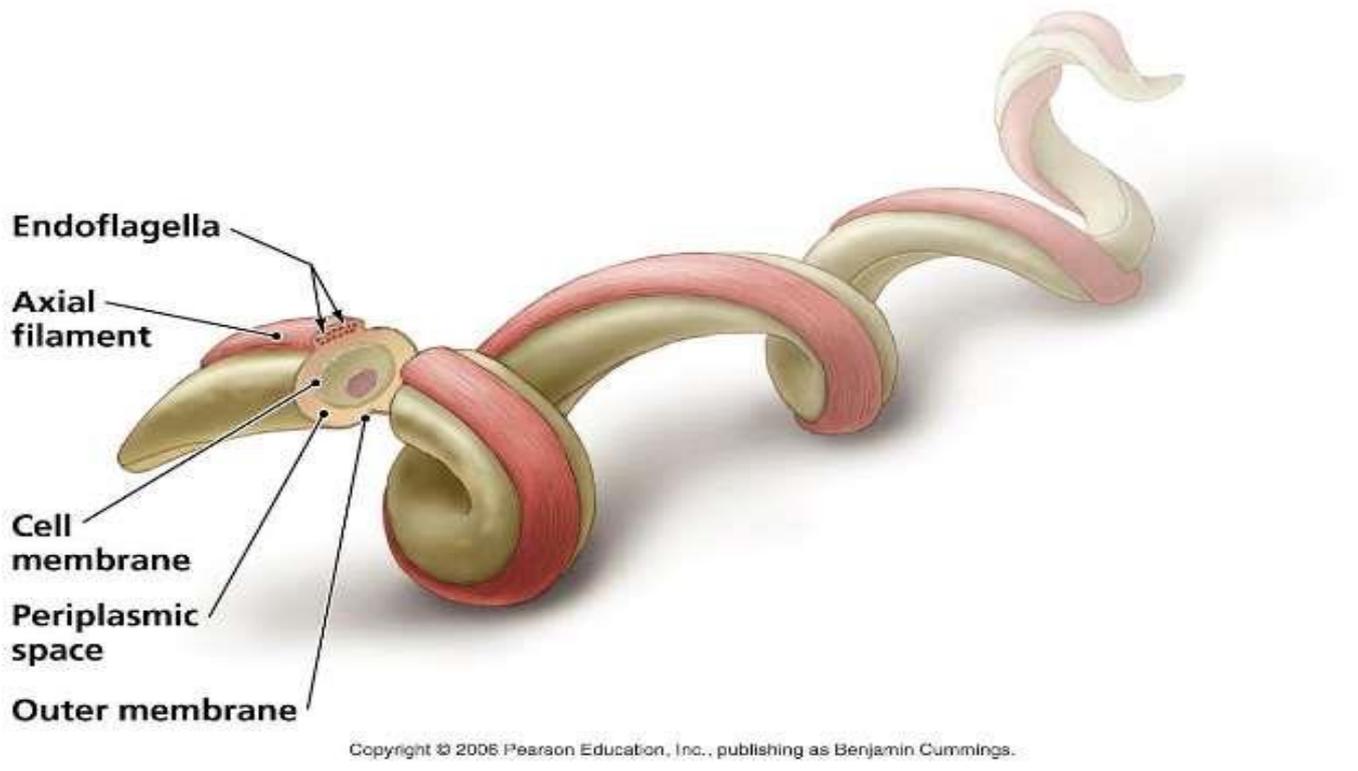
ПЦР-анализ ВИЧ

- Количественное определение РНК вируса (вирусная нагрузка) – определение **стадии** ВИЧ-инфекции и **прогноза**.
- Определение **провирусной ДНК** – сомнительные результаты блоттинга, **у детей от ВИЧ-инф. матерей**

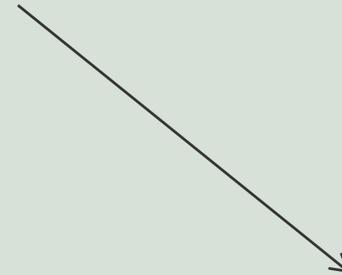
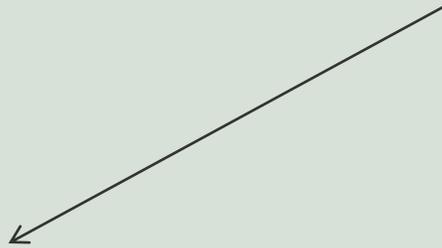
Вирусная нагрузка (viral load):

- Количественное содержание РНК ВИЧ-1 в организме пациента (плазма, лимфоузлы, спинномозговая жидкость)
- Отражает кинетику репродукции вируса *in vivo*
- Определение срока начала и эффективности антивирусной терапии

Сифилис



Лабораторные методы в диагностике сифилитической инфекции



Прямые методы

детекция возбудителя
Treponema pallidum,
его протеома или
генетического
материала

Непрямые методы

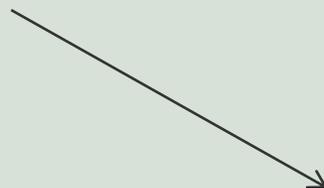
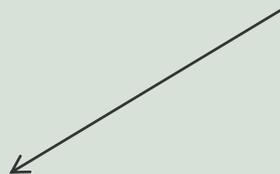
ИХА - определение
антител к наиболее
специфичным антигенам
Treponema pallidum

Прямые методы детекции *T. pallidum*:

- Микроскопия в тёмном поле (ТПМ)
- Прямая иммунофлюоресценция (ПИФ)
- Методы иннокулирования на животных
- Патоморфологические исследования (окраска по Романовскому-Гимзе, серебрение по Морозову)
- Молекулярно-генетические исследования: ---
полимеразная цепная реакция (ПЦР)
протеомное профилирование

Непрямые методы в диагностике сифилиса

- определение антител пациента против специфических антигенов возбудителя в сыворотке , плазме крови или ликворе (для диагностики всех форм сифилиса и контроля терапии)



**Трепонемные
тесты
ТТ**

**Нетрепонемные
тесты
НТТ**

Принципы ТТ:

При добавлении к сыворотке, плазме крови или ликвору больного сифилисом **трепонемного антигена** в виде:

- живой или фиксированной *T. pallidum* (РИБТ, РИФ);
 - Аг из разрушенной УЗ патогенной *T. pallidum*, сорбированного на эритроцитах (РПГА);
 - специфических для *T. pallidum* рекомбинантного или биосинтетического Аг, сорбированных на желатиновых частицах (ТР-РА); твердой фазе (ИФА, ИБ, ИХЛА, ИХрА, белковые биочипы), на микросферах (проточная флюорометрия, хМАР)
- образуются иммунные комплексы, выявляемые с использованием разных технологических подходов

Иммуногенные детерминанты *T. pallidum*

ТрN 15

- структурный белок *T. pallidum* и *T. pertenue* (фрамбезия), не обнаруживается у *T. pallidum* biotype Reiter.
- иммунный ответ на **ТрN15** при сифилисе развивается в 83-100%, но позднее, чем на другие Ag
- ложная позитивность не обнаруживаются у здоровых доноров

ТрpA

- периплазматический белок, участвующий в транспорте металлов через цитоплазматическую мембрану
- один из первых использован в ИФА (специфичен в 95%)
- Ab к **ТрpA** снижается при эффективной АМ терапии



ТрN39

- полипептид – главная составляющая поверхностной мембраны *T. pallidum*, играет важную роль в запуске иммунитета
- установлено быстрое снижение Ab после специфического лечения антибиотиками

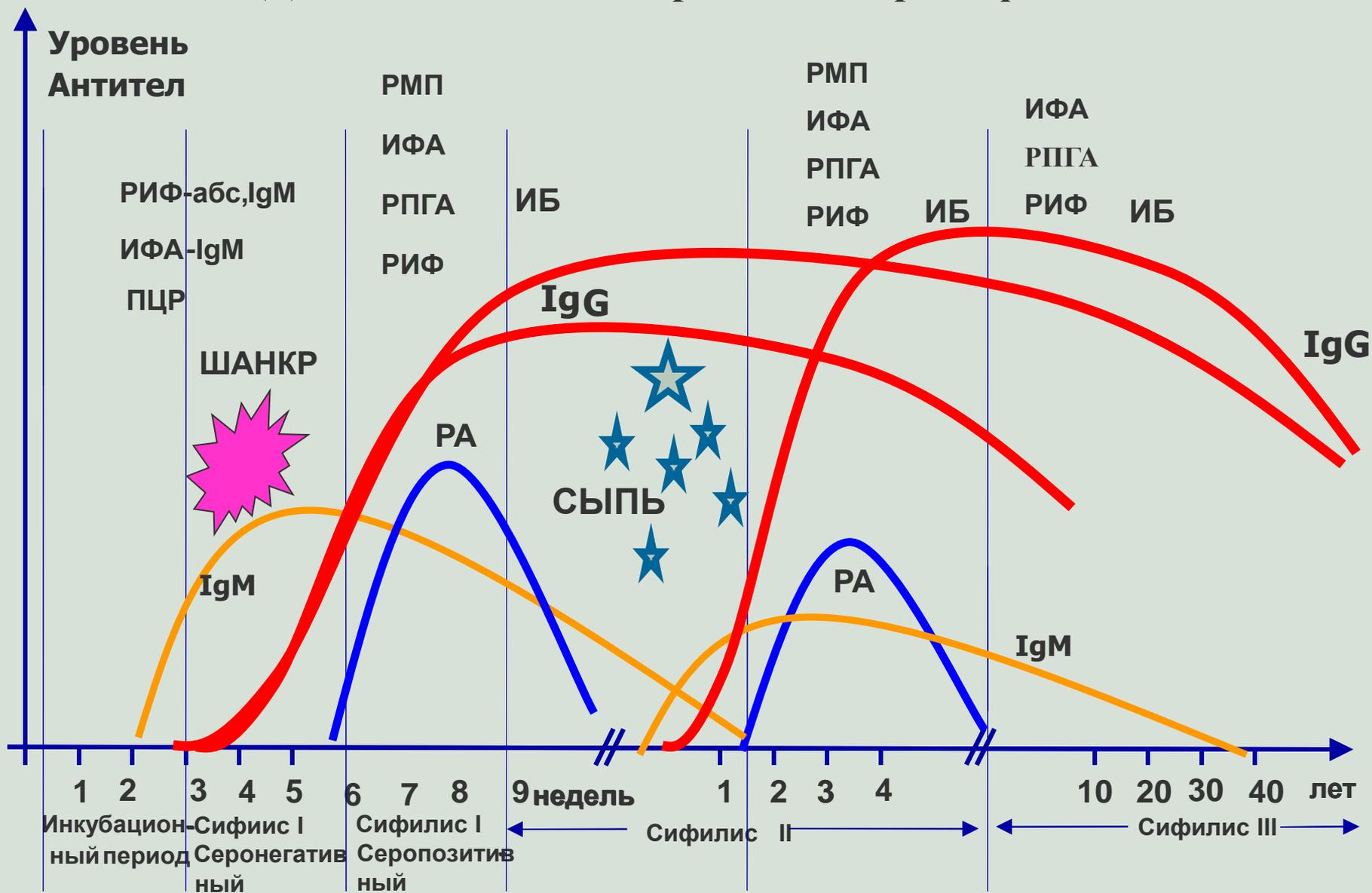
ТрN 17

- липопротеин внутренней мембраны и протоплазматического комплекса, в небольших количествах присутствует в наружной мембране
- высоко специфичен для *T. pallidum*, он используется для дифференциальной диагностики БЛПР

ТрpA

- Zn-зависимая карбоксипептидаза, в больших количествах продуцируется патогенной *T. pallidum*, не обнаруживается у трепонем-комменсалов
- в ИФА чувствительность - 92,5% и специфичность - 90%

Динамика антителообразования при сифилисе



ТТ, область применения:

- **проведение скрининга** на сифилис (ИФА, РПГА, ИХЛА, ИХрА);
- у лиц с соматической патологией, имеющих положительные результаты в НТТ, результаты исследования в ТТ **позволяют выявить ложные положительные результаты** серологического обследования в НТТ;
- **подтверждение положительных результатов**, полученных при скрининге с использованием других ТТ (ИФА, РПГА, ИХрА, РИФаbc/200, РИБТ, ИБ, хМАР и иммуночип).

ТТ, ограничения:

- ТТ не могут быть использованы для контроля эффективности специфического лечения, так как антитрепонемные антитела длительно циркулируют в организме больного, перенесшего сифилис и редко, но **могут давать ложноположительные результаты** у больных с аутоиммунными заболеваниями, лепрой, онкологической и эндокринной патологией, а также при других заболеваниях, патологических и физиологических состояниях, при боррелиозах и лептоспирозах;
- **дают положительные результаты** при тропических трепонематозах (вызываемых *T.pertenue*, *T.carateum* и *T.begel*).

Принципы НТТ:

(Флокуляционные нетрепонемные **тесты на основе кардиолипинового антигена**)

при добавлении к образцу (сыворотке/плазме крови или ликвору) больного сифилисом Аг Кл: (холестерол 0,98% + кардиолипиды 0,03% + лецитин 0,28%) происходит образование комплексов АГ-АТ в виде рыхлого осадка – флокулята (**преципитата**), состоящего из мелких хлопьев белого цвета (реакция микропреципитации (**РМП**, ЭМ).

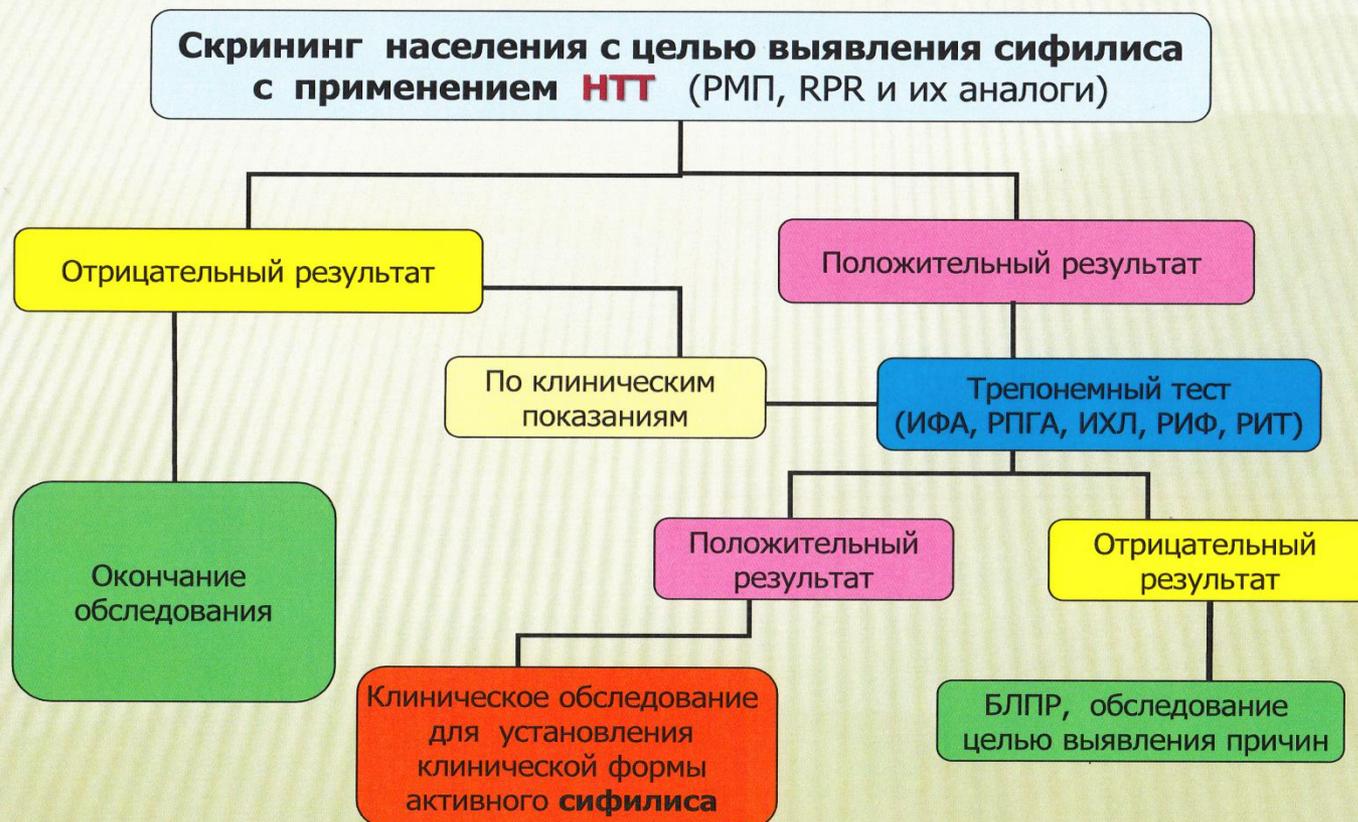
Для улучшения визуализации образования осадка в разных модификациях теста к Аг добавляют частицы древесного угля (**RPR**) или красители (толуидиновый красный - TRUST, судан чёрный - RST); - учёт результатов осуществляют с 2-х лупой (RPR, РМП) или под микроскопом (**VDRL**, USR); выпускается готовый к использованию Аг Кл, стабилизированный ЭДТА (USR) и/или мертиолятом (**разрешены к применению в РФ**)

НТТ, область применения:

- **проведение скрининга** населения на сифилис с целью выявления **активных форм течения инфекции**; оценка активности гуморального иммунного ответа у больных сифилисом (по уровню содержания реакиновых антител);
- **контроль эффективности специфического лечения** (по динамике снижения титра антител в сыворотке крови – снижение титра не менее, чем в 4 раза от исходного в течение 1 года).

Приказ МЗ РФ № 87 от 26 марта 2001г.
«О совершенствовании серологической
диагностики сифилиса»

Алгоритм обследования населения с целью выявления активного течения сифилиса



Применение алгоритма обследования

Тестированию с целью скрининга на сифилис с помощью данного алгоритма подлежат:

- лица в период общего диспансерного медицинского наблюдения;
- пациенты при госпитализации в медицинские учреждения;
- лица, в прошлом перенесшие сифилис и состоящие под КСК (с сохраняющимися положительными результатами исследований крови на сифилис в трепонемных тестах)

Реверсивный алгоритм обследования на сифилис

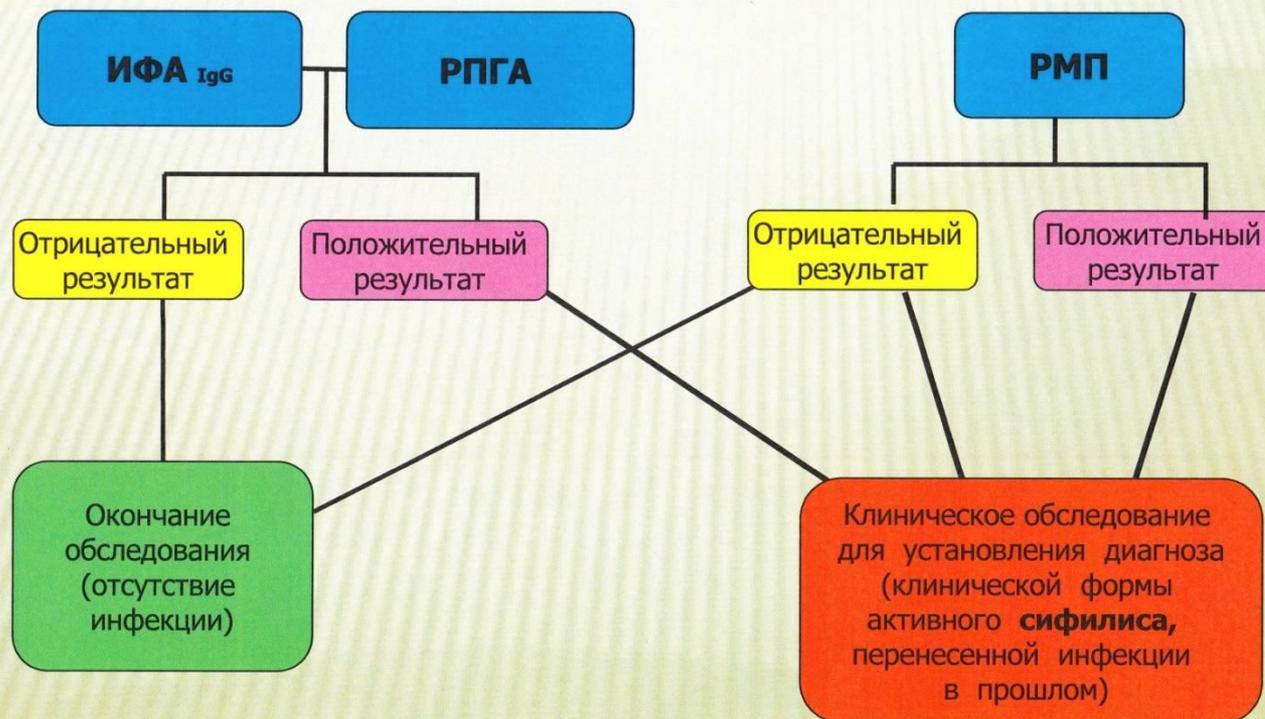


Применение реверсивного алгоритма обследования

Тестированию с целью скрининга на сифилис с помощью реверсивного алгоритма подлежат:

- все пациенты при госпитализации в медицинские учреждения;
- лица, изъявившие желание стать донорами;
- пациенты кожно-венерологических учреждений с подозрением на ранний сифилис, в том числе с отрицательными результатами обследования прямыми тестами (ТМП, ПЦР);
- лица, в прошлом перенесшие сифилис и состоящие под КСК (с сохраняющимися положительными результатами иммунологических исследований крови на сифилис)

Алгоритм обследования иностранных граждан и лиц без гражданства с целью выявления сифилиса



*Благодарю за внимание!
И терпение!*

