

Современная лабораторная диагностика гепатитов В, С, ВИЧ и сифилиса

КАФЕДРА КЛД
ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ
доцент Ракова Н.Г.

7 апреля 2017г
Тула

Инфекционная диагностика

```
graph TD; A[Инфекционная диагностика] --> B[Эпидемиологический анамнез]; A --> C[Данные клинического обследования]; A --> D[Определение биохимических показателей, ОАК]; A --> E[Инструментальные методы обследования]; A --> F[Морфологическое исследование тканей]; A --> G[Молекулярно-биологические методы выявления ДНК, РНК возбудителя методом ПЦР, определение генотипа возбудителя, генотипирование пациента]; A --> H[Выявление антигенов вирусов и антител к белкам возбудителя методом ИХА];
```

Эпидемиологический
анамнез

Данные клинического
обследования

Определение
биохимических показателей, ОАК

Инструментальные
методы обследования

Морфологическое исследование
тканей

Молекулярно-биологические методы
выявления ДНК, РНК возбудителя
методом ПЦР, определение генотипа
возбудителя, генотипирование
пациента

Выявление
антигенов вирусов
и антител
к белкам
возбудителя
методом ИХА

Клинико-лабораторная диагностика включает:

- *Скрининговые* исследования с подтверждающими тестами — установление факта инфицированности, диагноза
- *Диагностические* исследования - определение стадии клинического течения - прогноз клинического течения заболевания, выбор терапии и контроль эффективности проводимого лечения

МАКЕРЫ ВГВ

ДНК ВИРУСА

(HBV DNA)

ПОВЕРХНОСТНЫЙ АНТИГЕН

(HBsAg)

АНТИТЕЛА К ПОВЕРХНОСТНОМУ АНТИГЕНУ

(anti-HBs)

АНТИТЕЛА К СЕРДЦЕВИДНОМУ АНТИГЕНУ

(anti-HBc)

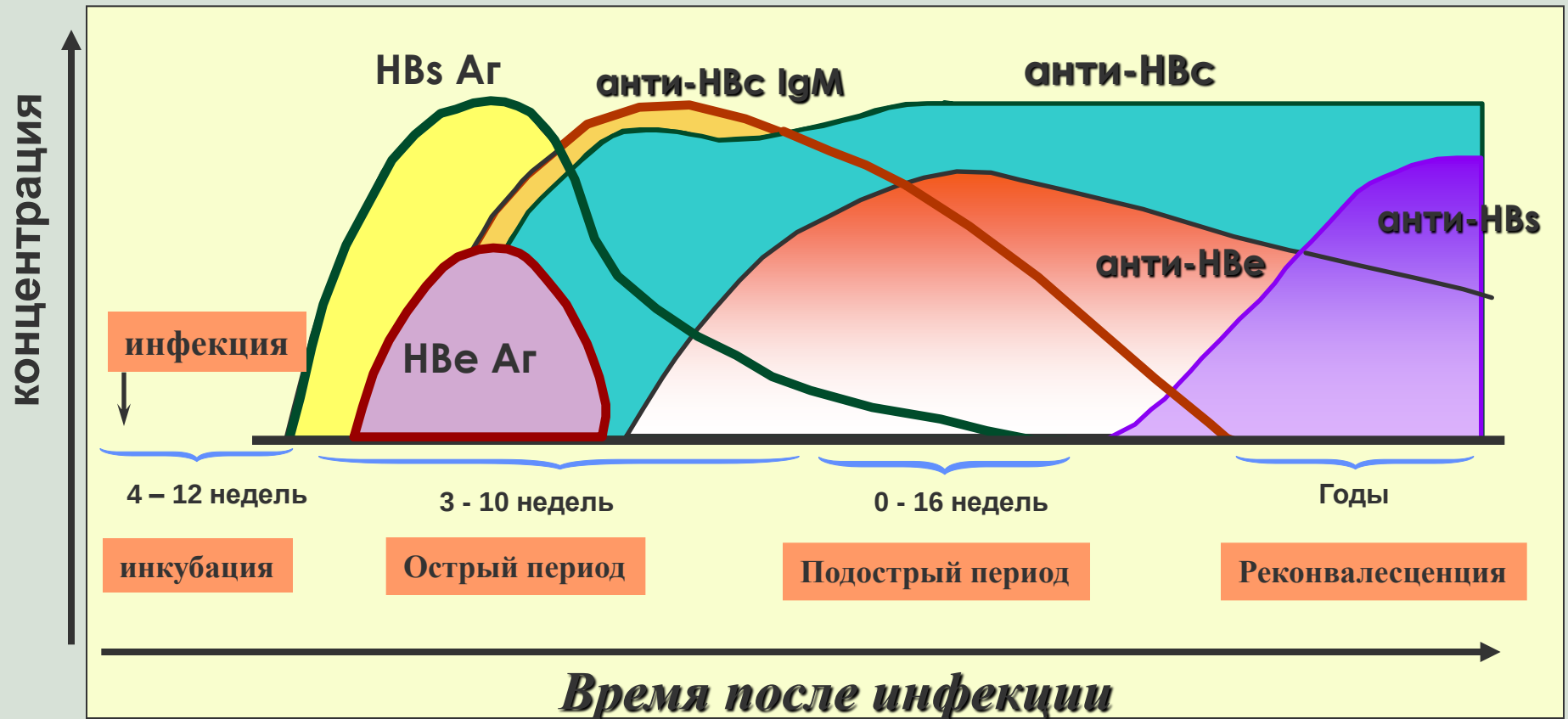
«АНТИГЕН ИНФЕКЦИОННОСТИ»

(HBeAg)

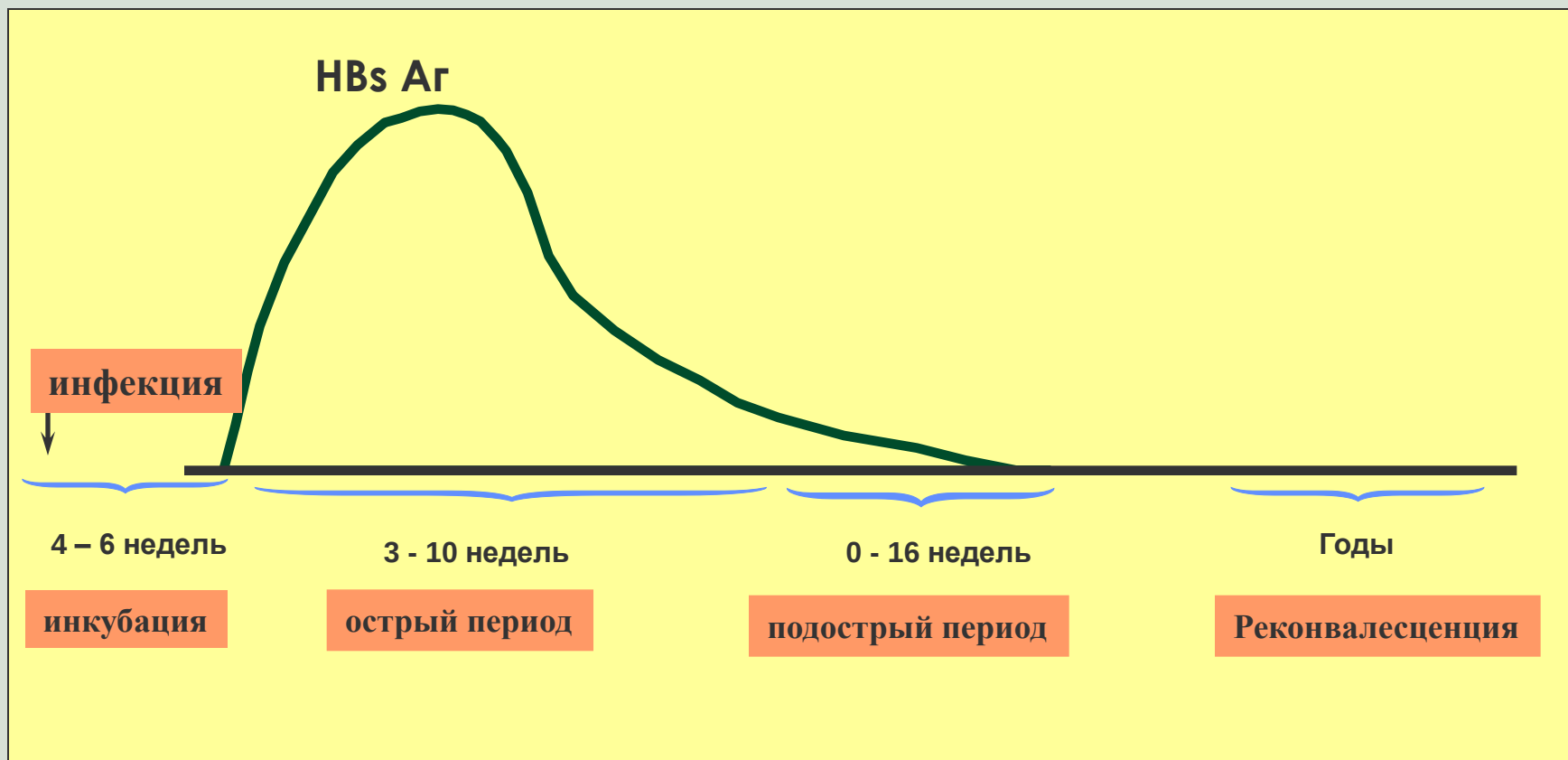
АНТИТЕЛА К «АНТИГЕНУ ИНФЕКЦИОННОСТИ»

(anti-HBe)

Серологическая картина гепатита В : острая форма



Гепатит В: маркеры- **HBs Ag**



Гепатит В: маркеры

HBs Ag (Поверхностный антиген ВГВ)

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

Гепатит В: маркеры

HBs Ag (Поверхностный антиген ВГВ)

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.

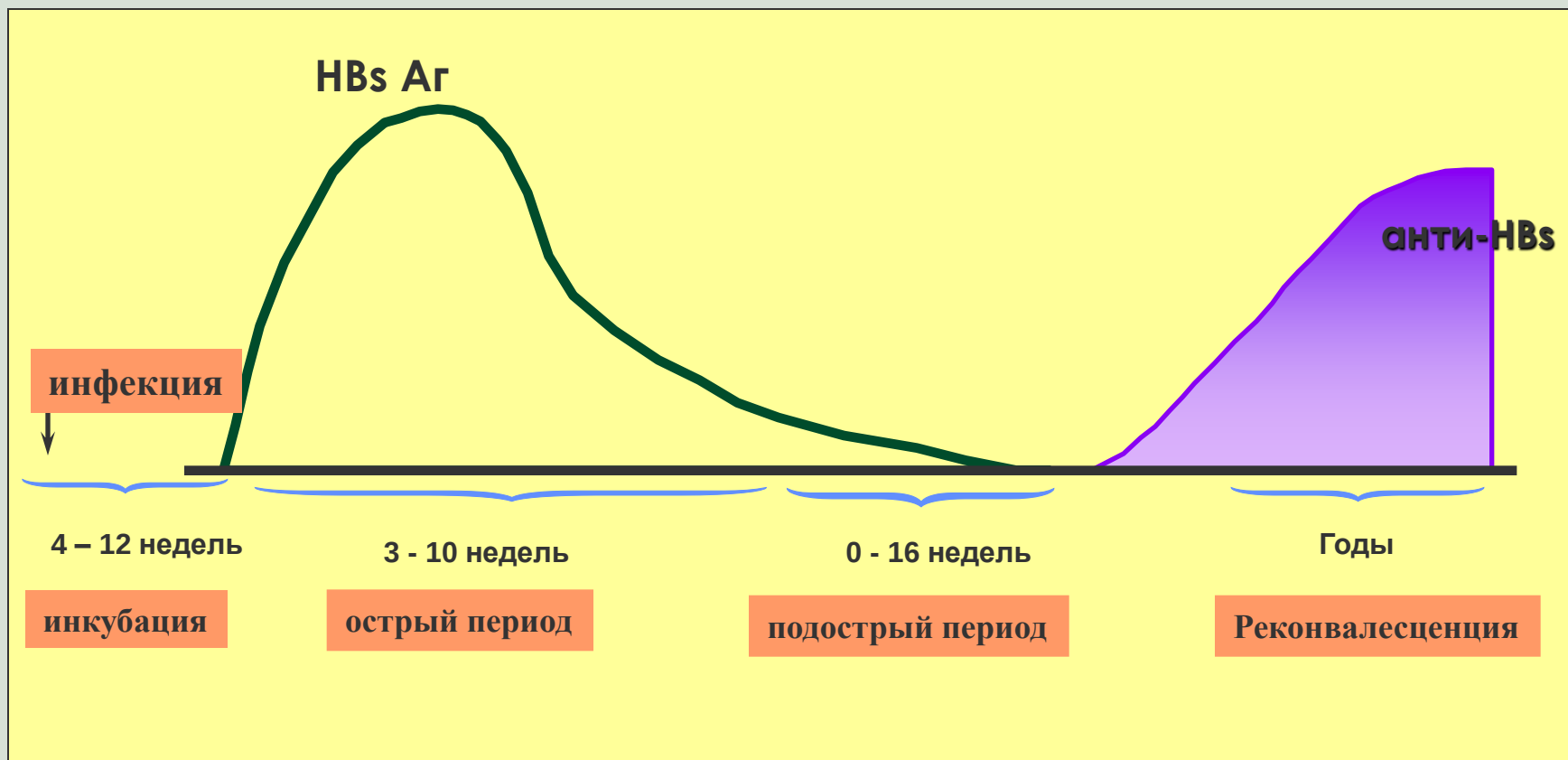
HBs Ag не удастся детектировать:

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

Гепатит В: маркеры

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 - **Анти-HBs**



Гепатит В: маркеры

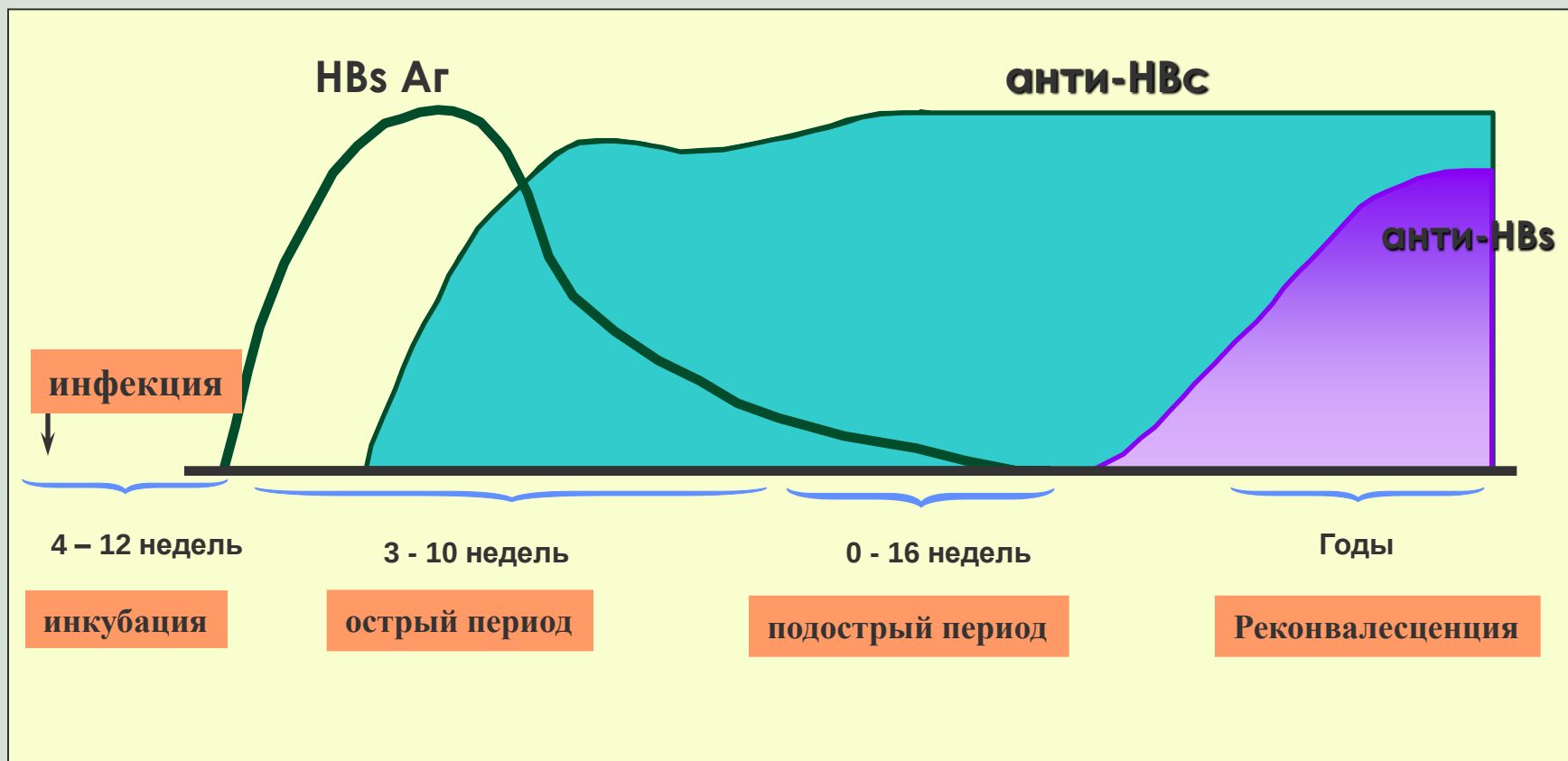
Анти-HBs

(Антитела к поверхностному антигену ВГВ)

Показатель клинического выздоровления и формирования последующего иммунитета

Перед вакцинацией определяют вместе с HBsAg. Количественно – для оценки напряженности иммунитета (перед вакцинацией и для оценки результатов вакцинации).

Гепатит В: маркеры - **Анти-НВс**

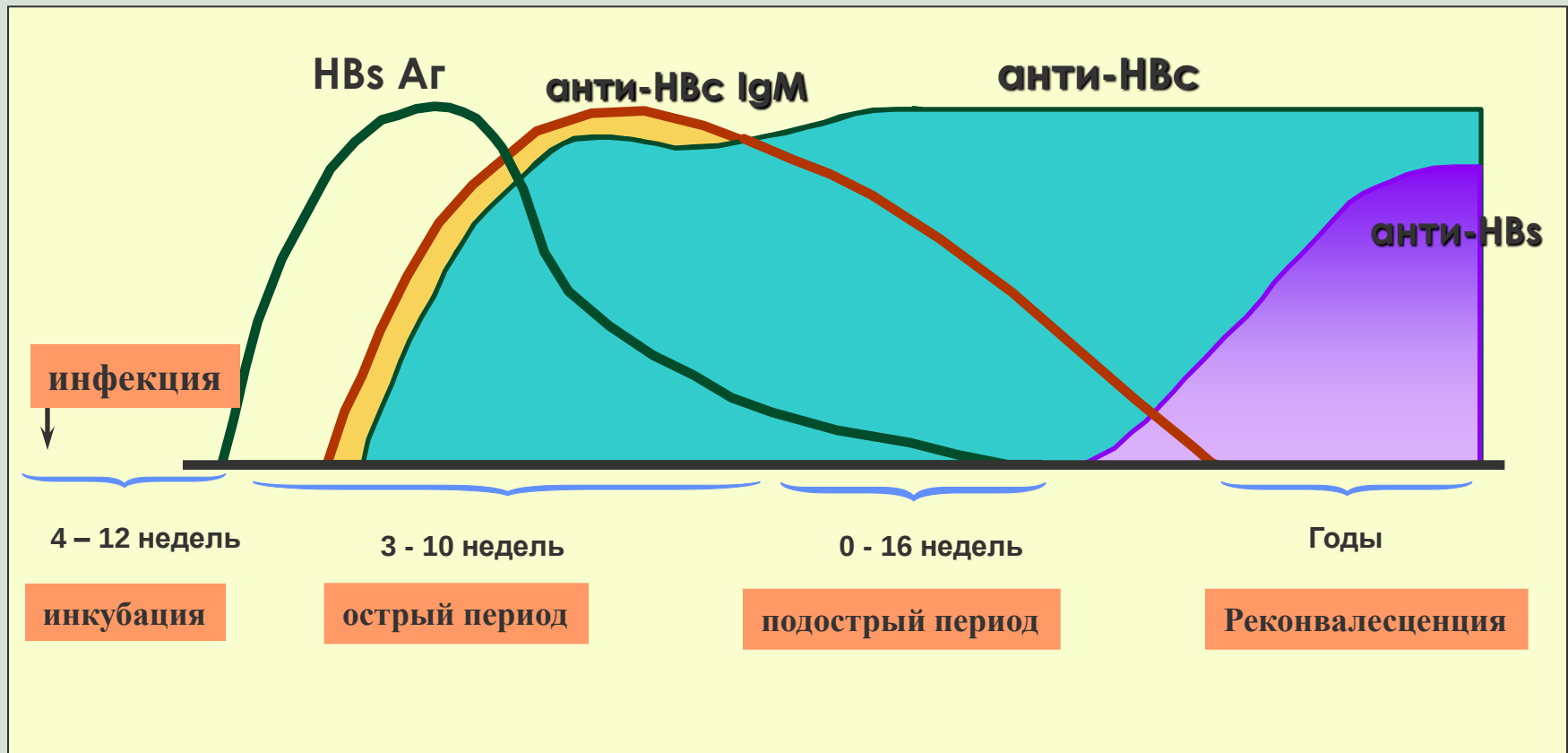


Гепатит В: маркеры

**Анти-НВс Общие антитела
(IgG и IgM к коровскому антигену ВГВ)**

**Длительно существующий маркер сыворотки,
который появляется при активации инфекции
в остром/хроническом периоде**

Гепатит В: маркеры - : **Анти-HBc IgM**



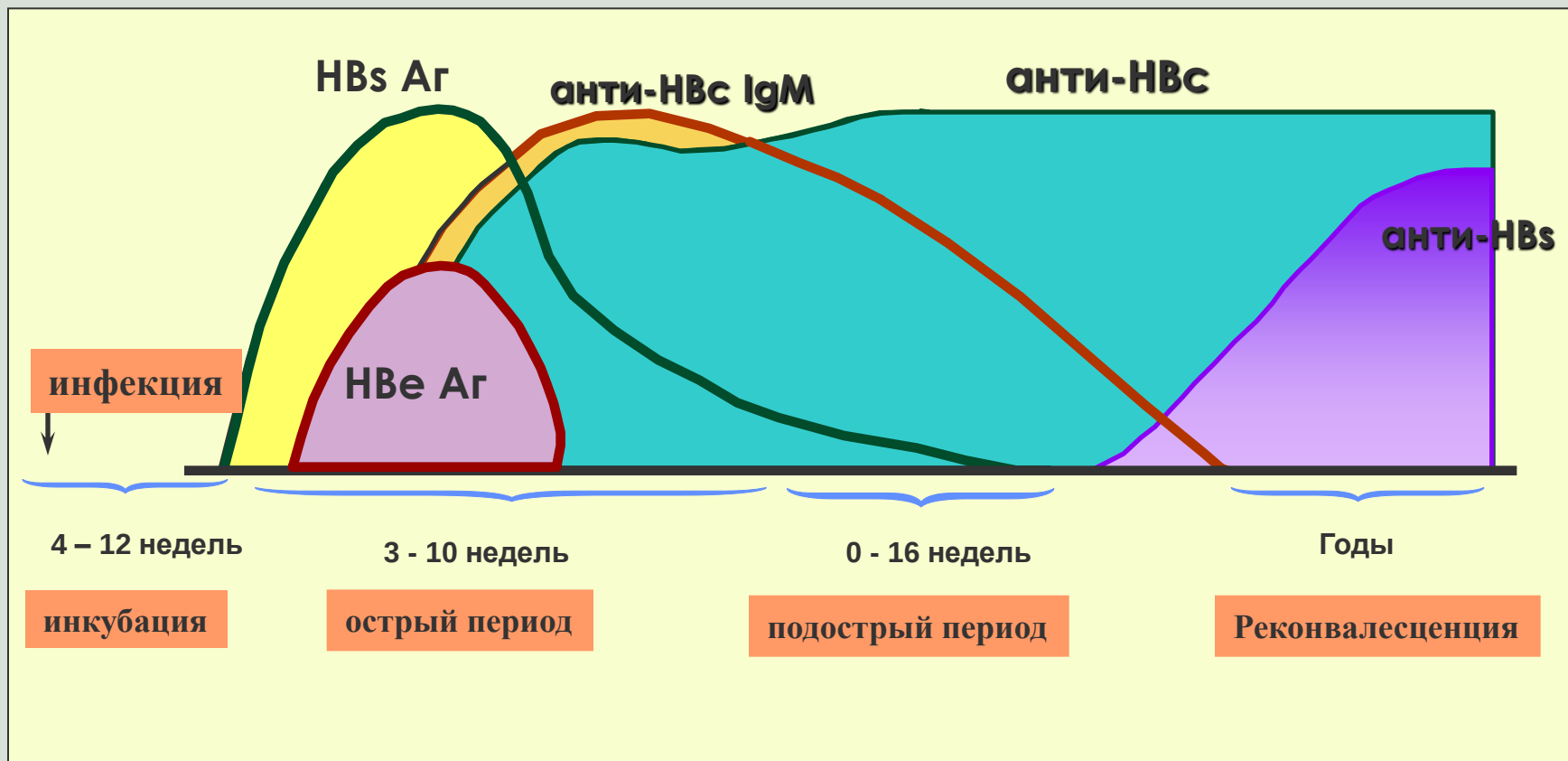
Гепатит В: маркеры

Анти-НВс IgM
(IgM антитела к коровскому антигену ВГВ)

Ранний маркер острой инфекции;

проявляется в течение начального периода острой фазы инфекции (через 1-2 недели после НВсАГ) , а также позволяет различить острое и хроническое течение заболевания.

Гепатит В: маркеры - **HBs Ag**



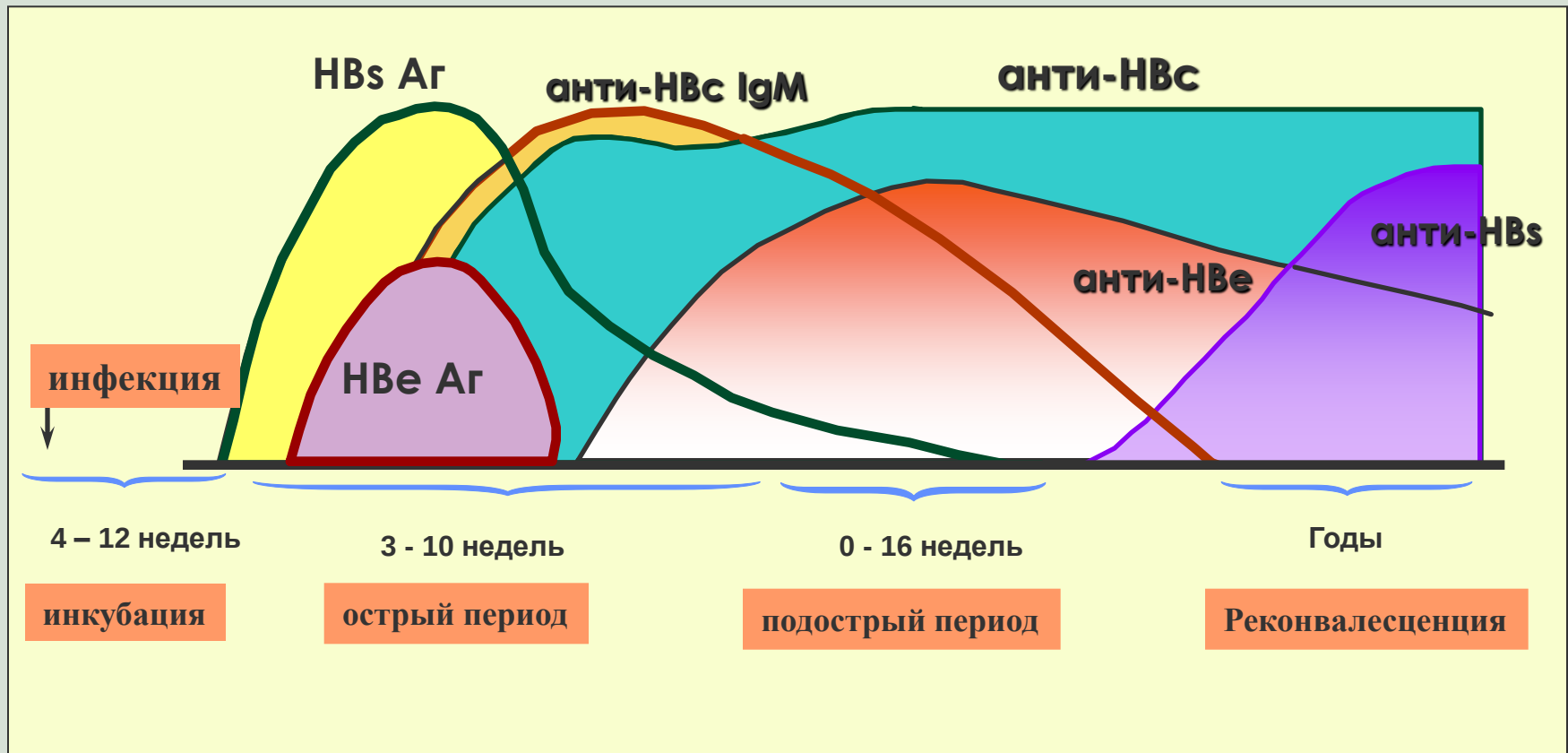
Гепатит В: маркеры

HBs Ag (HBs антиген)

Ранний маркер периода острой активной инфекции, косвенный показатель активной репликации вируса. При ОВГ определяется в крови в течение короткого периода: 3- 6 недель.

Персистенция е-антигена в острой фазе более 10 недель - показатель перехода в хроническую стадию.

Гепатит В: маркеры - **Анти-НВе**



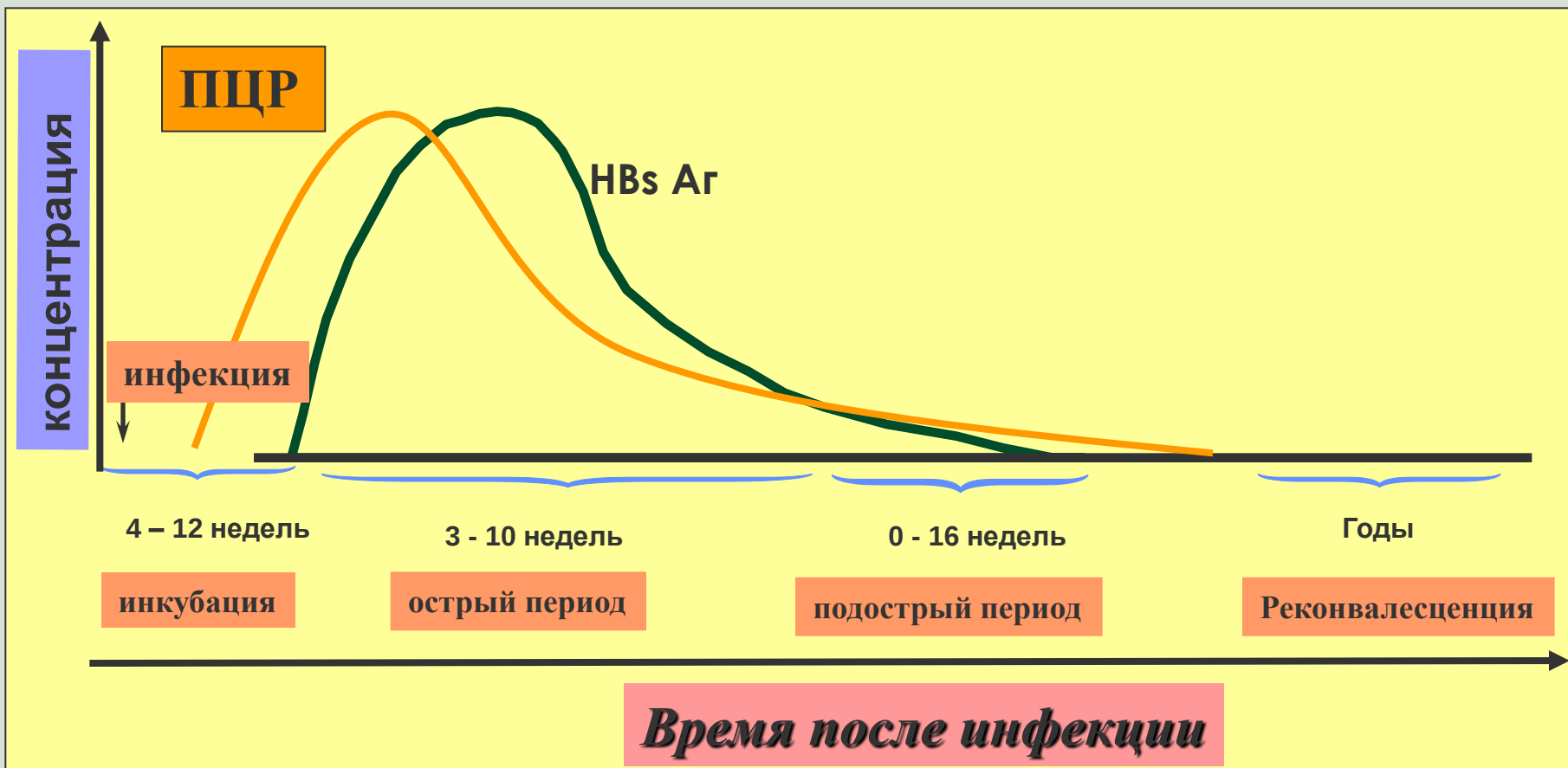
Гепатит В: маркеры

Анти-НВе (Антитела к НВе антигену)

Сероконверсия по Нве Аг с образованием анти-Нве в течение острой фазы является прогностическим признаком разрешения инфекции;

Выявление этих антител совместно с анти-НВс также является подтверждением реконвалесценции, даже если анти-НВс не определяются.

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)**
- **Граница между высокой и низкой вирусной активностью – 2000 МЕ/мл (10 000 копий/мл)**
- **Чем выше вирусная нагрузка при ХГВ, тем выше риск развития гепатокарциномы**

Гепатит В: маркеры

ДНК ВГВ (Вирусная ДНК гепатита В)

- **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)

Иммунологическая толерантность

- *Обычно развивается при инфицировании в неонатальном периоде*

Критерии иммунологической толерантности:

HBs-АГ в плазме крови выявляется 6 мес. и более;

НВе-АГ в сыворотке крови

- ДНК ВГВ в крови $\geq 2 \times 10^7$ МЕ/мл;
- Норма АЛТ, АСТ;
- Нет признаков поражения печени по результатам гистологии

Носительство ВГВ

*-персистенция инфекции ВГВ без
некротически-воспалительных изменений
в печени*

Критерии неактивного носительства:

- HBs-АГ в плазме крови выявляется 6 мес. и более;
- - HBe-АГ и + анти-HBe в сыворотке крови
- ДНК ВГВ в крови ≤ 2000 МЕ/мл;
- Норма АЛТ, АСТ;
- Нет признаков поражения печени по результатам гистологии

Хронический гепатит В

- *хроническое воспалительно-некротическое заболевание печени, обусловленное персистенцией вируса гепатита В.*

Критерии ХГВ:

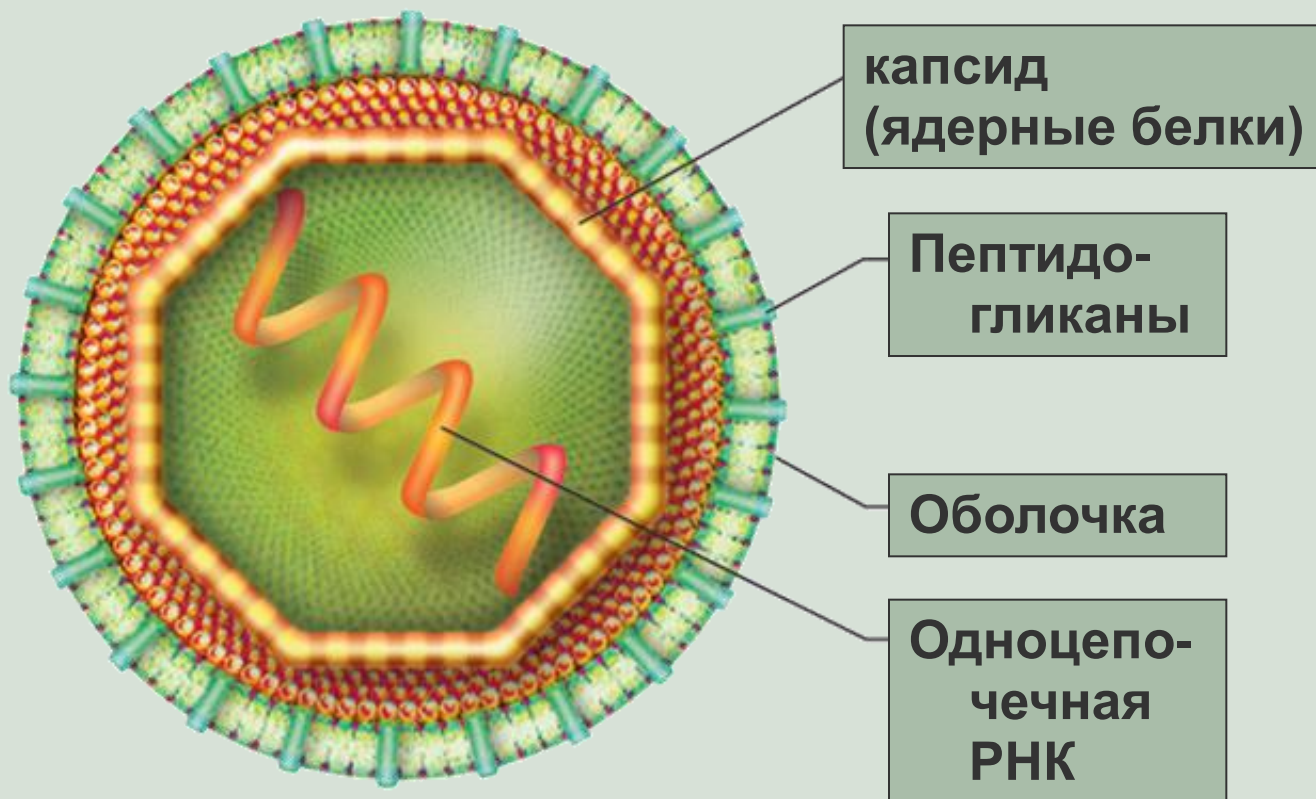
- HBs-АГ в сыворотке крови выявляется 6 мес. и более;
- ДНК ВГВ в крови ≥ 2000 МЕ/мл;
- $\uparrow$ АЛТ, АСТ постоянно или периодически;
- Умеренное и выраженное поражение печени по результатам гистологии

Критерии инфекции ВГВ

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

Вирусный гепатит С

Ag E1
Ag E2



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*

Подтверждающие тесты

Приказ № 322 (от 21.10.02)

Министерства здравоохранения РФ

«О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-ВГС) в сыворотке крови человека»

- регламентирует перечень ИФА тест-систем, допущенных для диагностики анти-ВГС при обследовании контингентов, предусмотренных в СП 3.1.958-99;
- Устанавливает обязательное использование конфирматорных тестов для подтверждения наличия **HBsAg и анти-ВГС**

Постановка окончательного лабораторного диагноза без подтверждения в одном из конфирматорных тестов запрещается

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 (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)*

1. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ ГЕПАТИТОМ С

2013 год

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

*(текст рекомендаций разослан **4.03.2013г.** циркуляром от имени замминистра Здравоохранения РФ в соответствующие департаменты здравоохранения во все регионы Российской Федерации для использования в практической деятельности)*

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ ГЕПАТИТОМ С

Лабораторное исследования

С целью диагностики гепатита С и мониторингирования пациентов с гепатитом С используются следующие лабораторные методики :

Серологические - определение специфических **анти-ВГС класса IgG или суммарных IgG и IgM иммунохимическими методами:**

иммуноферментный анализ (ИФА), иммунохемилюминесценция, иммуноблоттинг и т.д.

Диагностика проводится с использованием скрининговых и подтверждающих наборов реагентов.

В подтверждающем тесте, как правило, проводится определение антител к индивидуальным белкам ВГС - core, NS3, NS4, NS5 **методом ИФА или иммуноблоттинга**

Установление диагноза хронического гепатита С

В том случаев, если у пациента зарегистрирован положительный тест на анти-ВГС, но РНК ВГС обнаружить не удастся, оснований для диагноза ХГС недостаточно

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)*

*1.3. Соблюдение санитарных правил является обязательным для граждан,
юридических лиц и индивидуальных предпринимателей*

Классификация случаев заболеваний гепатитом С

- **Подозрительным на ОГС** является случай, характеризующийся сочетанием следующих признаков:
 - наличие ***впервые*** выявленных ***anti-HCV IgG*** в сыворотке крови,
 - ***наличие*** в эпидемиологическом анамнезе данных о возможном инфицировании вирусом гепатита С ***в течение 6 месяцев*** до выявления anti-HCV IgG,
 - повышение активности aminотрансфераз сыворотки крови.
- **Подозрительным на ХГС** является случай, характеризующийся сочетанием следующих признаков:
 - выявление ***anti-HCV IgG*** в сыворотке крови,
 - ***отсутствие*** в эпидемиологическом анамнезе данных о возможном инфицировании вирусом гепатита С ***в течение 6 месяцев*** до выявления anti-HCV IgG
- **Подтвержденным случаем гепатита С** является случай, соответствующий критериям подозрительного случая, **при наличии рибонуклеиновой кислоты (РНК)** вируса гепатита С в сыворотке (плазме) крови

3.1. Лабораторная диагностика гепатита С проводится серологическим и молекулярно-биологическим методами исследования.

3.2. Серологическим методом в сыворотке крови определяют наличие anti-HCV IgG. Для подтверждения положительного результата обязательным является определение антител к индивидуальным белкам вируса гепатита С (core, NS3, NS4, NS5).

3.3. Выявление иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита С в качестве маркера острой инфекции неинформативно, поскольку антитела данного класса могут отсутствовать при острой форме заболевания и обнаруживаться при ХГС.

3.4. Молекулярно-биологическим методом в сыворотке крови определяют РНК вируса гепатита С.

3.5. У лиц с иммунодефицитом (больные онкологическими заболеваниями, пациенты на гемодиализе, пациенты, находящиеся на лечении иммунодепрессантами и другие), а также в раннем периоде ОГС (до 12 недель после заражения) anti-HCV IgG могут отсутствовать. В данных группах пациентов диагностика гепатита С проводится с помощью одновременного выявления anti-HCV IgG и РНК вируса гепатита С.

3.7. Лица, у которых выявлены anti-HCV IgG, подлежат обследованию на наличие РНК вируса гепатита С.

3.9. Диагноз ОГС или ХГС подтверждается только при выявлении в сыворотке (плазме) крови РНК вируса гепатита С с учетом данных эпидемиологического анамнеза и результатов клинико-лабораторных исследований (активность аланин- и аспартатаминотрансферазы, концентрация билирубина, определение размеров печени и другие).

3.10. Подтверждение диагноза должно проводиться в сроки, не превышающие 14 суток, для обеспечения своевременного проведения профилактических, противоэпидемических и лечебных мероприятий.

3.11. Лица с anti-HCV IgG в сыворотке (плазме) крови при отсутствии у них РНК вируса гепатита С подлежат динамическому наблюдению в течение 2 лет и обследованию на наличие anti-HCV IgG и РНК вируса гепатита С не реже одного раза в 6 месяцев.

3.14. **Экспресс-тесты**, основанные на определении антител к вирусу гепатита С в слюне (соскоб со слизистой десен), сыворотке, плазме или цельной крови человека, могут применяться в клинической практике для быстрого ориентировочного обследования и принятия своевременных решений в экстренных ситуациях.

В медицинских организациях исследование на наличие антител к вирусу гепатита С с применением экспресс-тестов должно сопровождаться **обязательным дополнительным** исследованием сыворотки (плазмы) крови пациента на наличие anti-HCV IgG, а при необходимости - одновременным обследованием на наличие anti-HCV IgG и РНК вируса гепатита С классическими серологическими и молекулярно-биологическими методами. **Выдача заключения о наличии или отсутствии антител к вирусу гепатита С только по результатам экспресс-теста не допускается.**

3.16. В документе, выдаваемом лабораторией по результатам исследования на anti-HCV IgG и РНК вируса гепатита С, в обязательном порядке указывается наименование тест-системы, с помощью которой проводилось данное исследование.

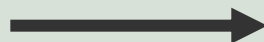
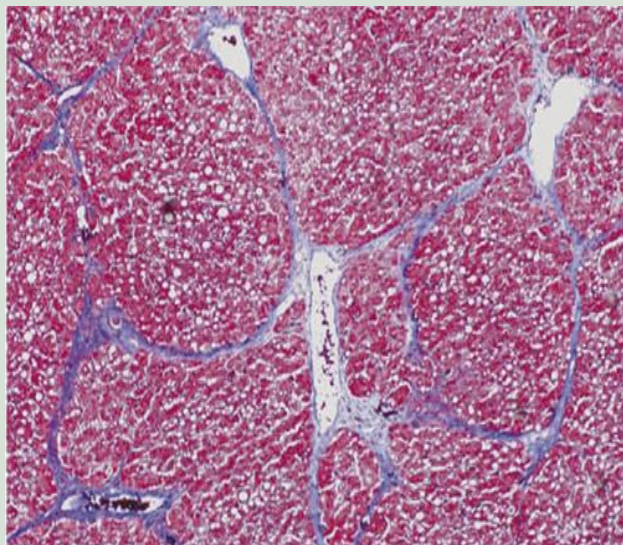
Организация диспансерного наблюдения за больными гепатитом С и лицами с наличием антител к вирусу гепатита С

Диспансерное наблюдение за лицами **с наличием антител** к вирусу гепатита С (**при отсутствии у них РНК** вируса гепатита С) проводится с ***целью подтверждения либо отмены диагноза гепатита С.***

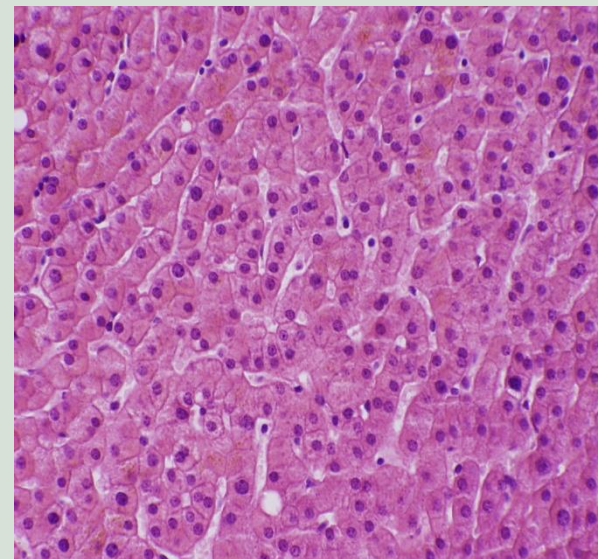
Лица с наличием **anti-HCV IgG**, у которых **отсутствует РНК** вируса гепатита С при динамическом лабораторном обследовании **в течение 2 лет** с периодичностью ***не реже одного раза в 6 месяцев***, считаются **реконвалесцентами и подлежат снятию с диспансерного наблюдения**

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

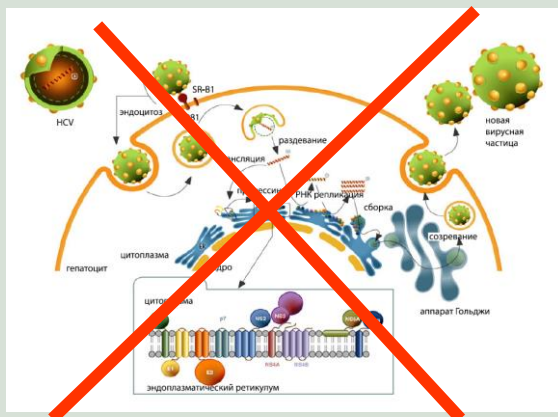
Фиброз 4 стадии
(цирроз)



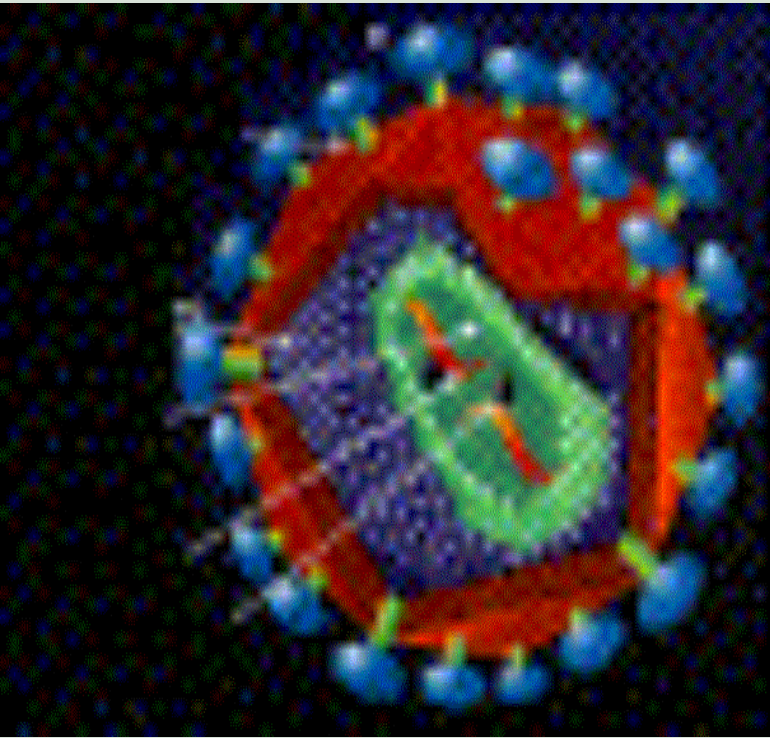
Нормальная ткань печени



Блок репликации
вируса



ВИЧ-инфекция



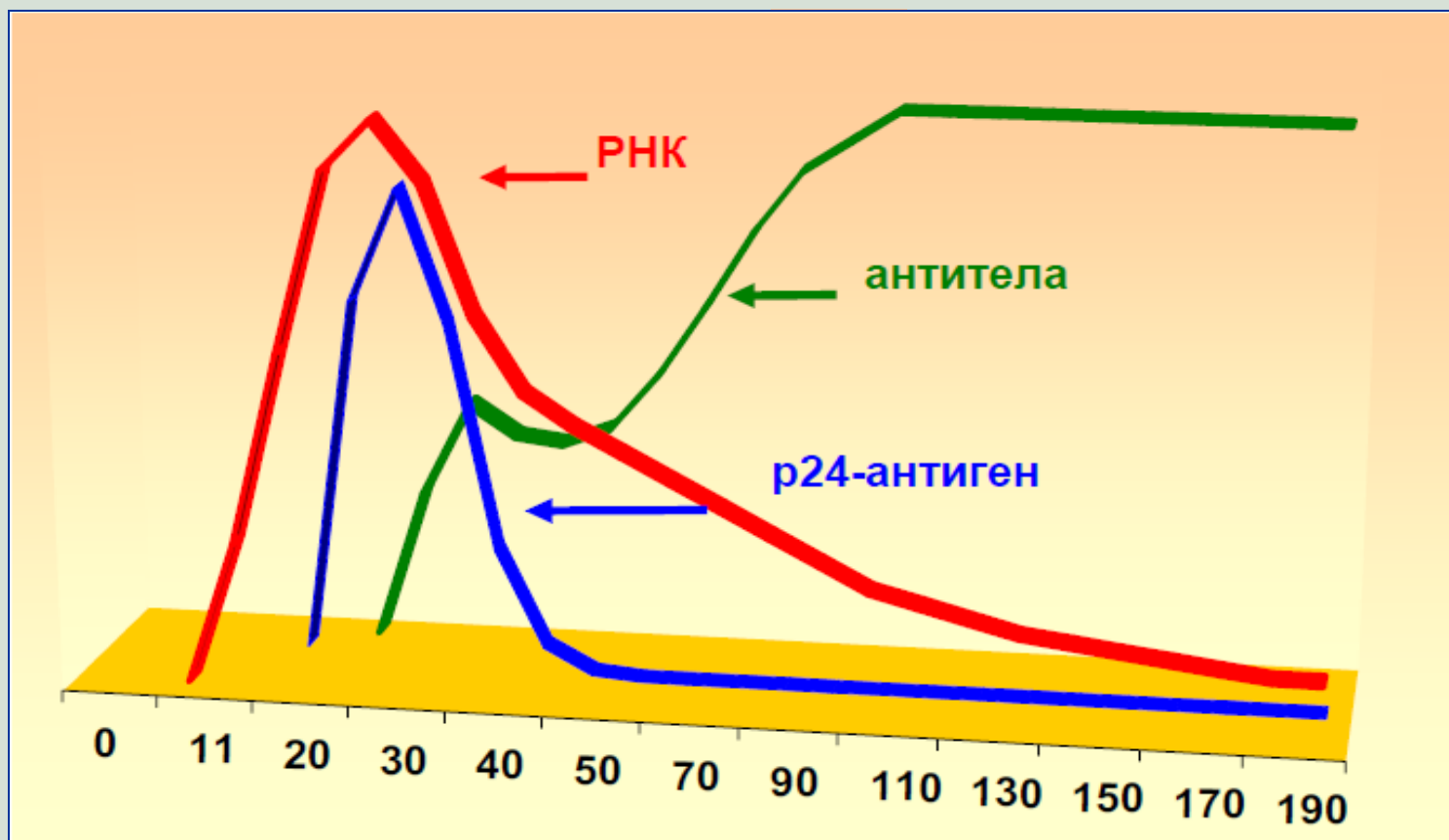
Схематическое строение ВИЧ

- Трансмембранный gp41/36
- Эпимембранный gp120/105
- Матриксный каркас Р 17
- Оболочка нуклеоида Р24
- 2 одноцепочечные РНК
- Серцевина нуклеоида Р7 и Р9
- Комплекс ферментов: обратная транскриптаза, интеграза, 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, РНКазы 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



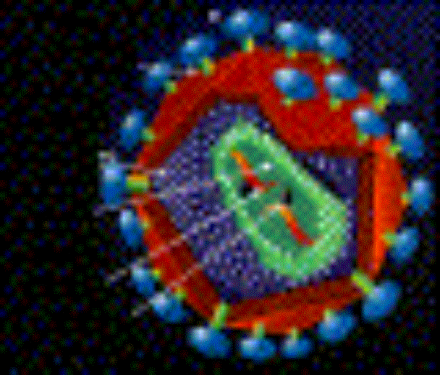
Нормативная документация

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

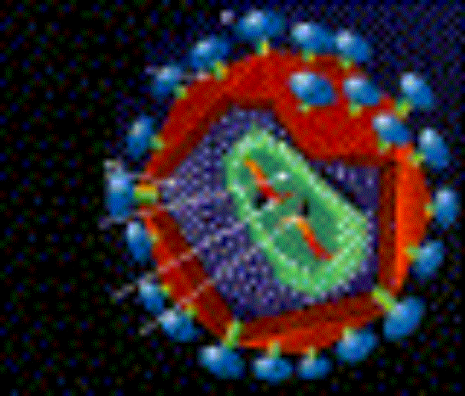


Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции (в ред. Изменений N 1, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 21.07.2016 N 95)

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

СКРИНИНГ:

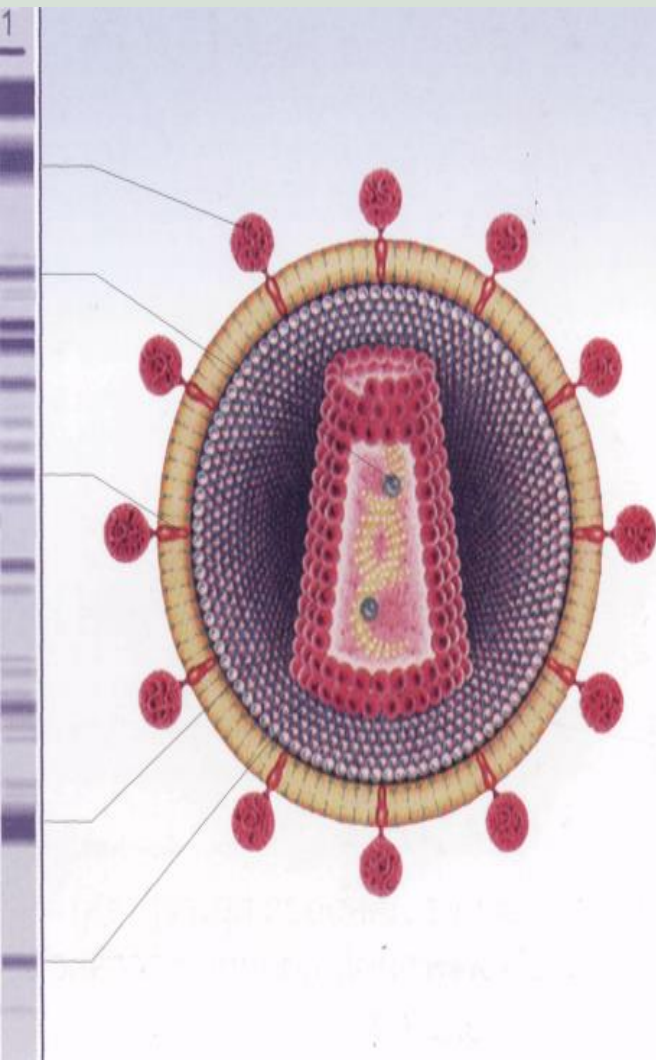
- **одновременное выявление AgP24 и суммарных антител (IgM, IgG) к ВИЧ (ИФА, ИХЛА).**
- Положительный результат - последовательно ещё два исследования (с той же сывороткой и в той же тест системе)
- Если получены два положительных результата из трех – сыворотка первично положительная.
- Направляется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



Референсное исследование: **одновременное выявление Аг** **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.
-

Иммуный блоттинг

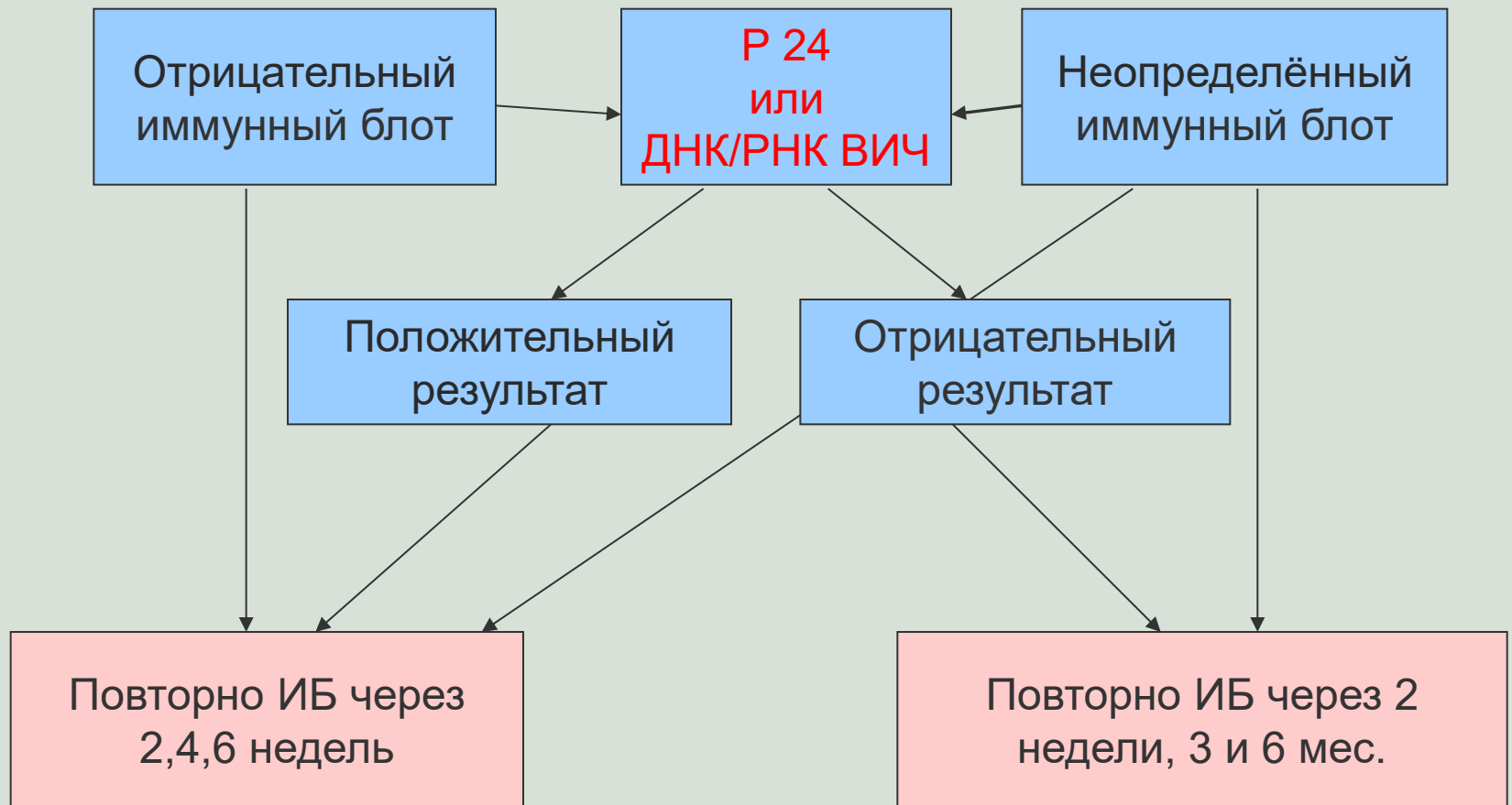


Группа белков	ВИЧ-1	ВИЧ-2
Белки оболочки env	gp 160, gp120, gp41	gp 140, gp105, gp 36
Белки сердцевины gag	p 55, p 24, p17	p 56, p26, p18
Ферменты вируса pol	p 66, p51, p31	p 68

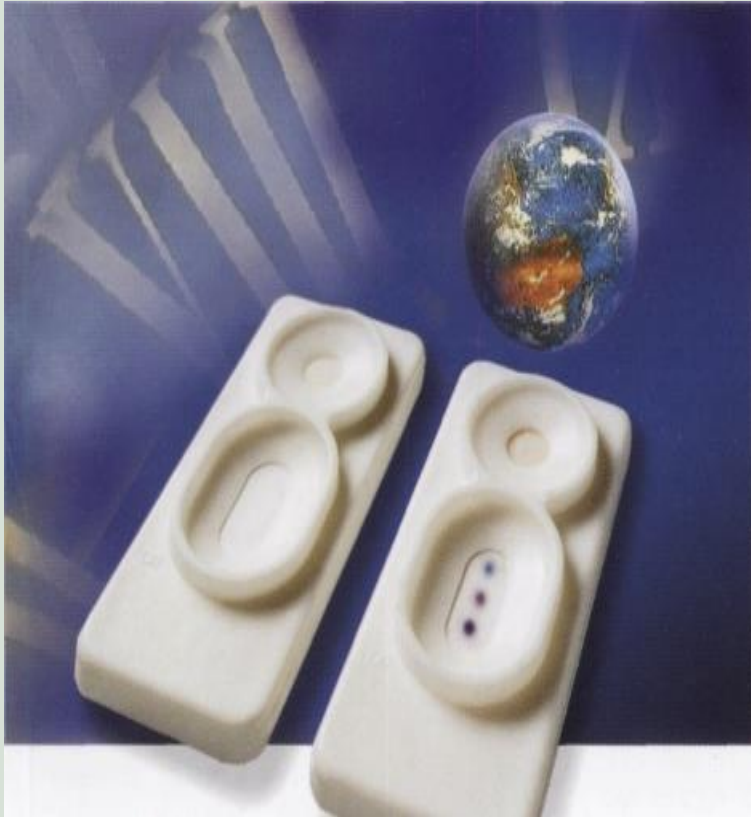
Интерпретация результатов иммунного/линейного блоттинга

- **Положительный** - наличие антител к 2 из 3 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 преедродовом периоде (для назначения медикаментозной профилактики ВИЧ-инфекции в родах);
- постконтактная профилактика - ВИЧ - тестирование на ВИЧ в случае аварийной ситуации.

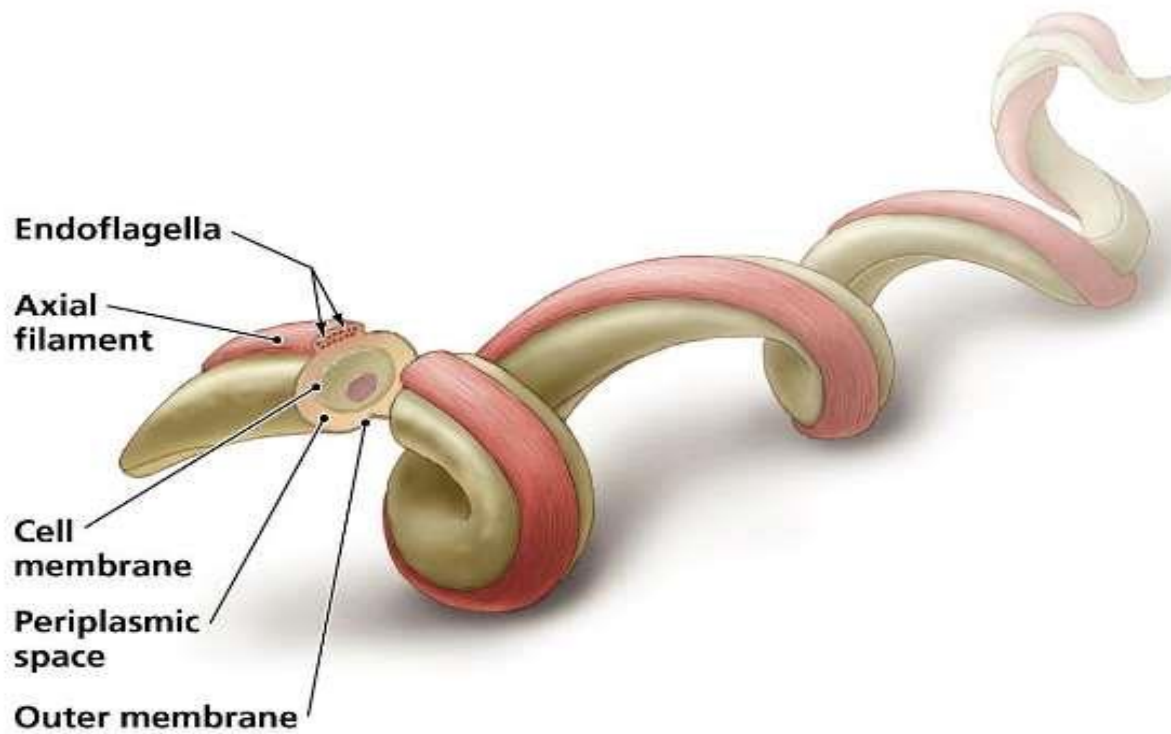
ПЦР-анализ ВИЧ

- 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



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Лабораторные методы в диагностике сифилитической инфекции

```
graph TD; A[Лабораторные методы в диагностике сифилитической инфекции] --> B[Прямые методы]; A --> C[Непрямые методы];
```

Прямые методы

детекция возбудителя
Treponema pallidum,
его протеома или
генетического
материала

Непрямые методы

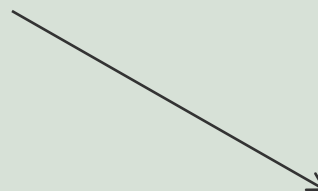
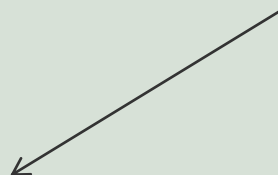
ИХА - определение
антител к наиболее
специфичным антигенам
Treponema pallidum

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);
- Ag из разрушенной УЗ патогенной *T. pallidum*, сорбированного на эритроцитах (РПГА);
- специфических для *T. pallidum* рекомбинантного или биосинтетического Ag, сорбированных на желатиновых частицах (ТР-РА); твердой фазе (ИФА, ИБ, ИХЛА, ИХрА, белковые биочипы), на микросферах (проточная флюорометрия, xMAP)

образуются иммунные комплексы, выявляемые с использованием разных технологических подходов

Иммуногенные детерминанты *T. pallidum*

TrpN 15

- ♦ структурный белок *T. pallidum* и *T. pertenue* (фрамбезия), не обнаруживается у *T. pallidum* biotype *Reiter*.
- ♦ иммунный ответ на **TrpN15** при сифилисе развивается в 83-100%, но позднее, чем на другие Ag
- ♦ ложная позитивность не обнаруживаются у здоровых доноров

ТmрА

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



TrpN39

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

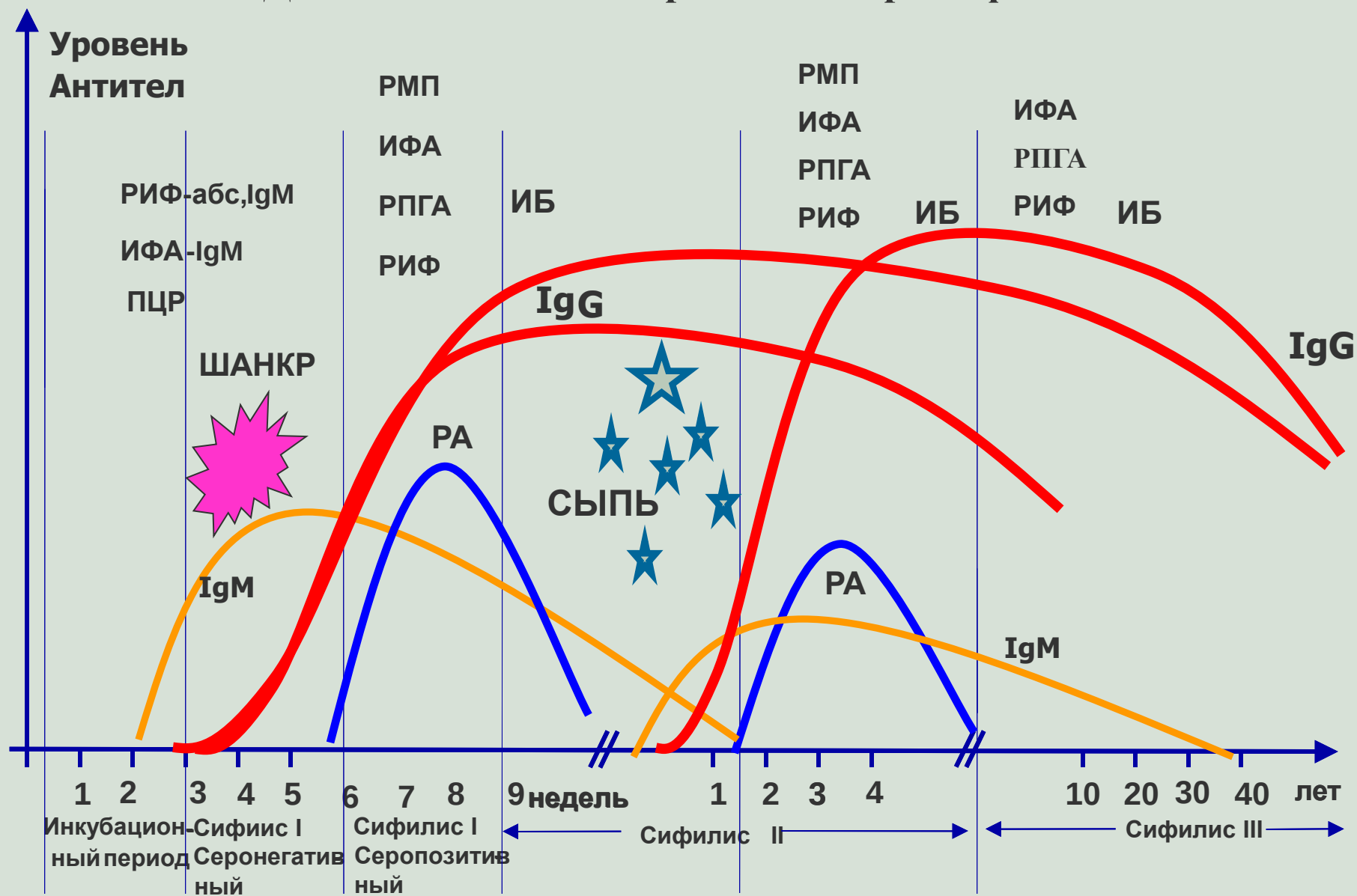
TrpN 17

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

ТmрА

- ♦ 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, РИФа_{abc}/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% + кардиолипин 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).

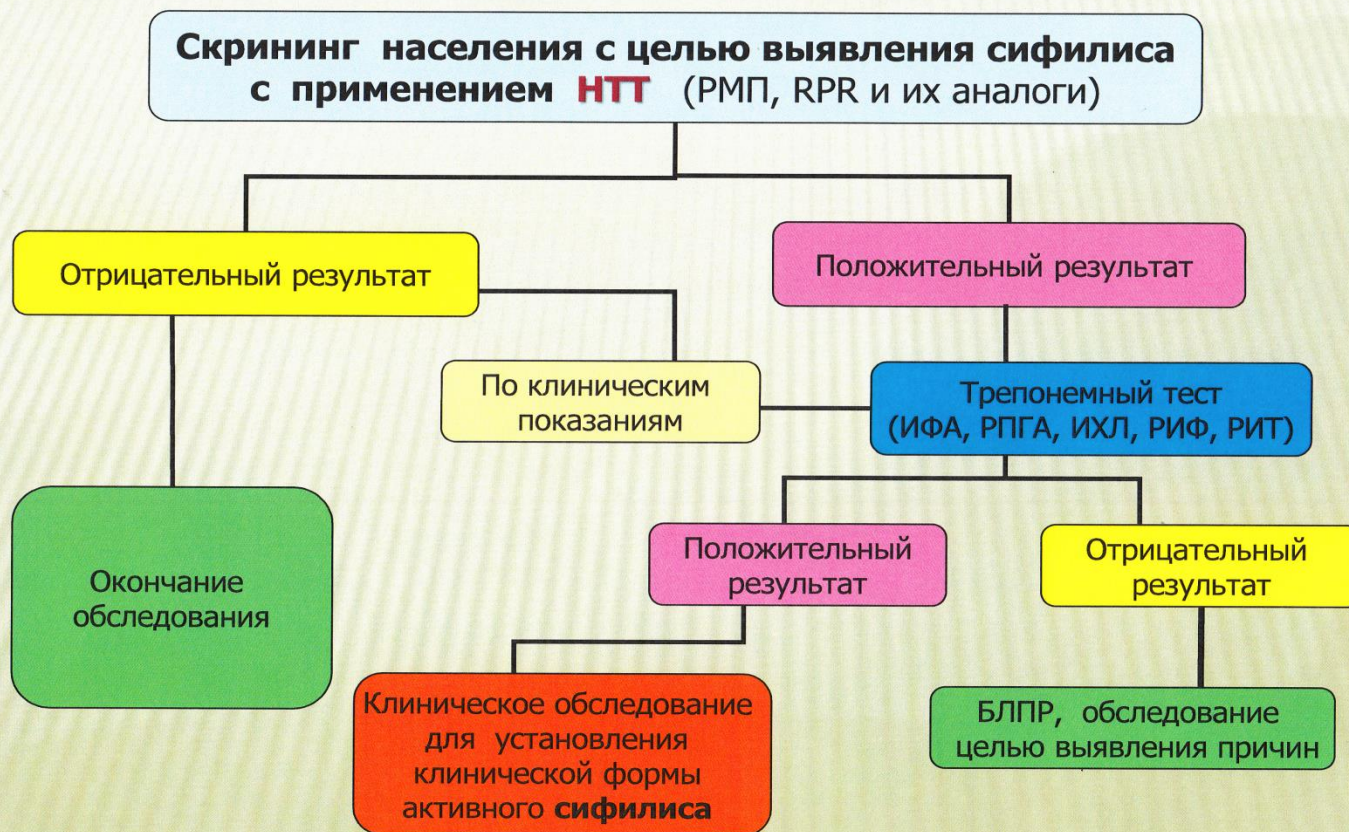
Для улучшения визуализации образования осадка в разных модификациях теста к Аг добавляют частицы древесного угля (**RPR**) или красители (толуидиновый красный - TRUST, судан чёрный - RST); - учёт результатов осуществляют с 2-х лупой (RPR, РМП) или под микроскопом (**VDRL**, USR); выпускается готовый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

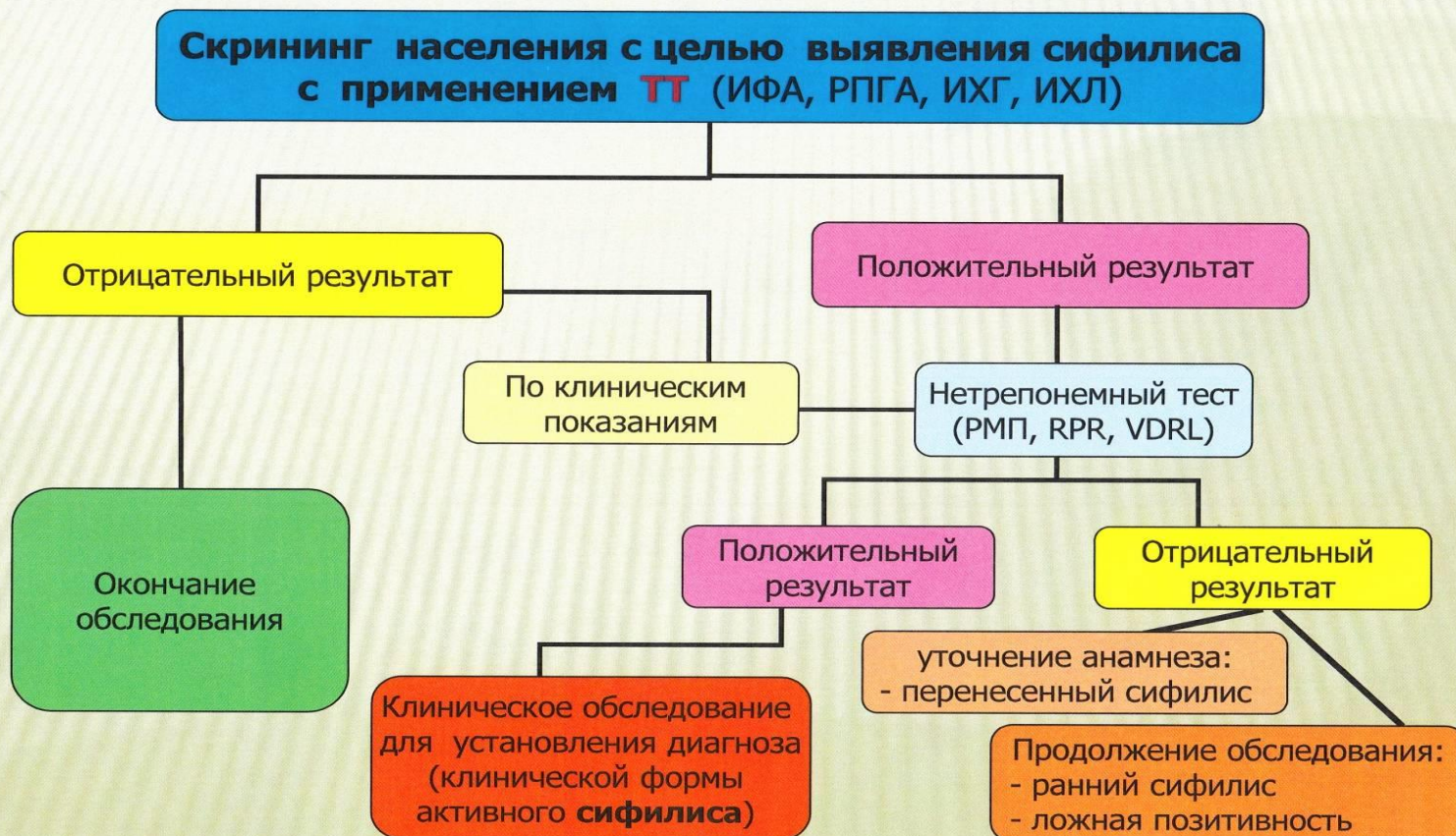


Применение алгоритма обследования

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

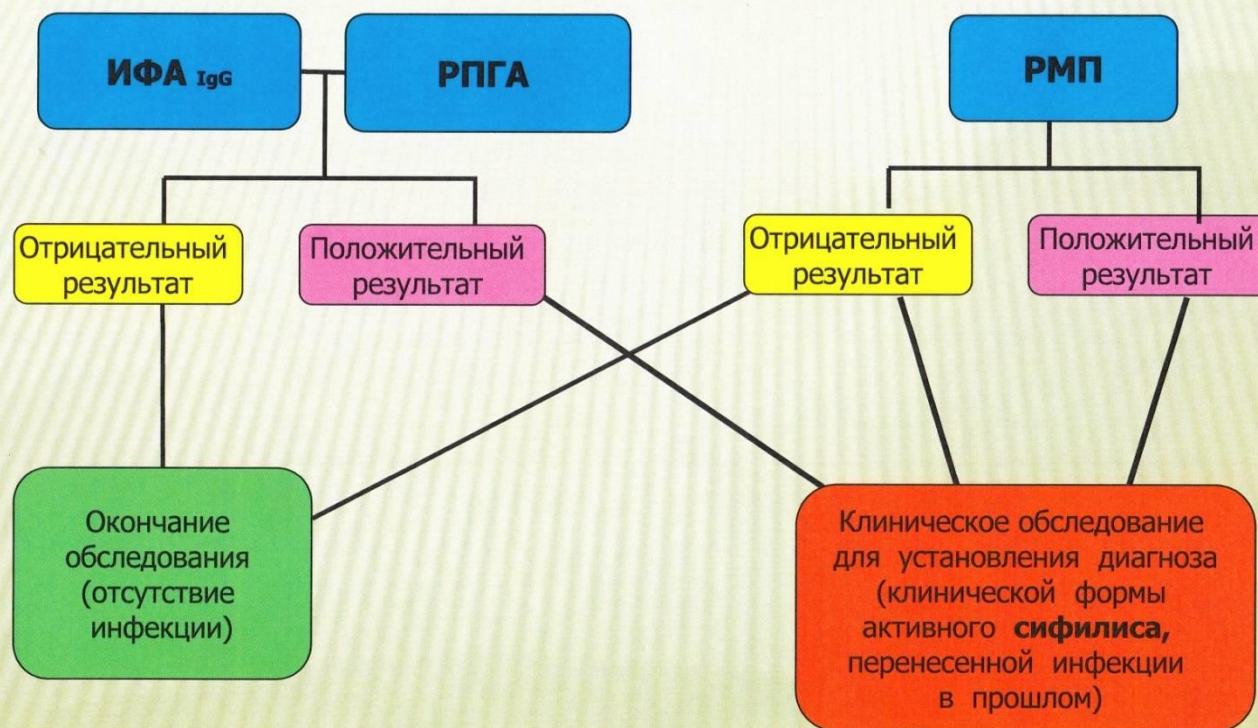


Применение реверсивного алгоритма обследования

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!