



Лабораторная диагностика сифилиса

План лекции

- Этиология и патогенез сифилиса.
- Техника взятия материала от больных.
- Лабораторная диагностика различных форм сифилиса.
- Микроскопия бледной спирохеты в темном поле зрения.
- Интерпретация результатов лабораторных исследований на сифилис

Сифилис. Определение.

- Сифилис — инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой, передающееся преимущественно половым путем и характеризующееся периодичностью течения.

Слои населения, подверженные заболеваниям, передаваемым половым путем

- Профессиональные и полупрофессиональные проститутки;
- Лица аморального поведения и половой распущенности из социально адаптированных групп населения, т.е. имеющие работу, постоянное место жительства, нередко семью;
- Социально неадаптированные лица, преступные и мафиозные элементы
- Вернувшиеся из мест заключения, неработающие, бродяги;
- Гомосексуалисты, имеющие множественные половые связи с разными партнерами;
- Наркоманы, лица, злоупотребляющие алкоголем, реже - алкоголики, которые [SEP]легко вступают в половые связи со случайными партнерами, а наркоманы [SEP]часто и в групповые;
- Лица с психическими заболеваниями, со сниженным интеллектом, проявляющие гиперсексуальность, с отсутствием или снижением контроля над своим [SEP]поведением.

Бледная трепонема (1)

- **Клеточная (наружная) стенка** состоит из прозрачного мукополисахаридного чехла и мембранной наружной стенки. Клеточная стенка предохраняет микроорганизм от воздействия антител, антибиотиков и других губительно действующих веществ. Патогенные бледные трепонемы нередко лишены клеточной стенки, другие обладают типичной трехслойной стенкой.
- **Цитоплазматическая мембрана** обеспечивает способность бактериальной стенки к избирательному транспорту. Содержит многие ферментные системы и антигены, выполняет барьерные функции, ограничивая проникновение лекарственных препаратов внутрь бледной трепонемы. Принимает участие в процессах метаболизма, осуществляет активный перенос питательных веществ из внешней среды в клетку. Структурные изменения цитоплазматической мембраны приводят к гибели бледной трепонемы

Бледная трепонема (2)

- **Протоплазматический цилиндр** расположен непосредственно под наружной^[L]_[SEP]стенкой, по периферии ограничен цитоплазматической мембраной. В нем находятся рибосомы, содержащие рибонуклеопротеиды и ферменты, обеспечивающие^[L]_[SEP]синтез белка.
- **Количество рибосом** возрастает в делящихся клетках и уменьшается в цистах и^[L]_[SEP]L-формах бледных трепонем.
- **Мезосомы** расположены на отдельных участках бледной трепонемы, занимают^[L]_[SEP]половину или весь ее поперечник. Они участвуют в образовании клеточных перегородок при делении, в образовании спор, снабжают энергией точки усиленного роста. Связаны с цитоплазматической мембраной, в них локализируются ферментные системы - поставщики энергии.

Роль и виды лабораторных тестов

- * Несмотря на то, что окончательный диагноз сифилиса устанавливает врач-клиницист, **лабораторные исследования имеют большое значение в практике.**
- * Применяемые в настоящее время методы лабораторной диагностики сифилиса можно разделить на 2 группы:
 - * **прямые тесты**, основанные на непосредственном выявлении возбудителя из очагов поражения;
 - * **непрямые тесты** для выявления антител к возбудителю сифилиса в сыворотке крови - серологическая диагностика.
- * **Прямое определение** патогенных *T. pallidum* в очагах поражения позволяет достоверно установить диагноз **при манифестных формах инфекции.**
- * **Непрямые (серологические) методы** диагностики наиболее важны **при диагностике скрытых форм инфекции.**

Прямые методы диагностики сифилиса

- * *T. pallidum* и ее генетический материал в образцах, полученных из поражений или инфицированных лимфатических узлов при раннем сифилисе, можно обнаружить с помощью следующих методов:
 - * микроскопия в темном поле микроскопа;
 - * прямая иммунофлюоресценция;
 - * молекулярно-биологические методы - полимеразная цепная реакция (ПЦР).
 - * Заражение лабораторных животных

Сифилис. Забор материала на микроскопическое исследование.

- * При первичном сифилисе исследуется на бледную трепонему отделяемое твердого шанкра или пунктат лимфатических узлов.
- * При вторичном сифилисе материал берется с поверхности эрозированных папул на коже, слизистых, с трещин и др.
- * Перед забором материала с целью очищения от загрязнений поверхность очагов необходимо тщательно протереть стерильным ватно-марлевым тампоном, который смачивается 0,9% р-ром NaCl или назначить примочки с этим же раствором.
- * Очищенную поверхность осушивают сухим тампоном и платиновой петлей или лопаточкой слегка раздражают периферические участки, одновременно слегка сдавливая пальцами в резиновой перчатке основание элемента до появления тканевой жидкости (серума), из которой готовят препарат для исследования.
- * Получение тканевой жидкости имеет важно, так как бледные трепонемы находятся в просветах лимфатических капилляров, в тканевых щелях вокруг лимфатических и кровеносных сосудов

Сифилис. Пункция лимфатических узлов (1).

- * Кожу над лимфатическими узлами обрабатывают 96% спиртом и 3-5% спиртовым раствором йода.
- * Затем 1 и 2 пальцами левой кисти фиксируют лимфатический узел.
- * Правой рукой берут стерильный шприц с несколькими каплями изотонического раствора хлорида натрия, который вкалывается параллельно продольной оси лимфатического узла.
- * Игла проталкивается в разных направлениях до противоположной стенки капсулы узла и содержимое шприца медленно вводится.
- * Пальцами левой кисти лимфатический узел слегка массируется.
- * При медленном извлечении иглы одновременно выдвигают поршень шприца, аспирируя содержимое лимфатического узла.

Сифилис. Пункция лимфатических узлов (2).

- * Материал наносится на предметное стекло (при малом количестве материала добавляется капля изотонического раствора хлорида натрия), покрывается покровным стеклом.
- * Исследование нативного препарата проводится в темном поле зрения при помощи светооптического микроскопа с темнопольным конденсором (объектив 40, 7х, 10х или 15х).
- * Бледные трепонемы могут обнаруживаться также в окрашенных препаратах.
- * При окраске по Романовскому-Гимзе бледные трепонемы окрашиваются в розовый цвет, по Фонтану и Морозову в коричневый (черный), по методу Бурри неокрашенные трепонемы выявляются на темном фоне

Темнопольная микроскопия

- * Один из наиболее убедительных методов визуализации
- * Дает возможность поставить диагноз даже без учета данных[SEP]серологических тестов.
- * Позволяет изучать бледную трепонему в живом виде, дифференцировать ее от других трепонем:
 - * по морфологическим признакам
 - * по характерным особенностям движения

Иммунный ответ на внедрение T.pallidum

- * Иммунный ответ на внедрение T. pallidum приводит к синтезу антител, направленных против антигенов возбудителя.
- * Антитела определяются в сыворотке, плазме крови, спинномозговой жидкости.
- * Первые антитела - IgM-антител с константой седиментации^[SEP]19S, появляются уже через 10-14 сут после инфицирования и не выявляются в неспецифических реакциях.
- * IgM-антитела позволяют диагностировать приобретенный сифилис в наиболее ранние^[SEP]сроки - в инкубационном периоде.
- * Позже начинают вырабатываться^[SEP]IgM-антитела против группо- и типоспецифических белковых детерминант, а при первичном сифилисе - против липидных антигенов трепонемы.

Классификация непрямых лабораторных тестов для диагностики сифилиса

- * **Нетрепонемные тесты** - определяют АТ к липоидным АГ тканей хозяина или возбудителя. Реактивность в этих тестах обычно указывает на повреждение тканей и не всегда специфична в отношении сифилиса. Отличаются простотой выполнения и низкой стоимостью. Используются как отборочные реакции при установлении предварительного диагноза сифилиса;
- * **Трепонемные тесты** - используются специфические АГ трепонем, обязательные для подтверждения диагноза (РПГА, РИТ, РИФ и ИФА, в том числе в СМЖ). Являются более сложными и дорогостоящими, чем тесты 1-й группы, но и более специфичными и чувствительными.

Реакция Вассермана. Недостатки.

- * Длительность выполнения теста
- * Дороговизна
- * Субъективный учет реакции
- * Высокая частота ложноотрицательных и ложноположительных результатов
- * Не подлежит стандартизации, автоматизации и протоколированию результатов
- * Не подлежит внешнему контролю качества.
- * За рубежом данную реакцию не применяют ^{SEP} для диагностики сифилиса уже больше 30 лет.
- * В настоящее время она является морально устаревшей.

Трепонемные тесты

- * Являются подтверждающими
- * Основаны на применении антигенов бледной трепонемы
- * **Включают:**
 - * ИФА
 - * РПГА
 - * РИФ
 - * РИБТ
 - * Иммуноблоттинг.

Выявление поздних форм сифилиса в соматических стационарах

- * Для выявления поздних форм сифилиса (глазные, психоневрологические, кардиологические стационары) лучше использовать РМП (качественно и количественно) в сочетании с ИФА, РПГА, РИФ или иммуноблоттингом (1 реакция на выбор) в зависимости от возможностей лаборатории
- * При получении неоднозначных, разноречивых, труднотрактуемых результатов исследование дополняется РИБТ

Лабораторное обследование при подозрении на первичный сифилис

- * Лица с клиническими проявлениями, подозрительными на наличие первичного ^[L]_{SEP} сифилиса, должны быть обследованы с помощью:
 - * РМП (качественный и количественный вариант),
 - * РИФ или иммуноблоттинга;
 - * при возможности - ИФА-IgM ^[L]_{SEP} или 19S IgM-РИФ с абсорбцией.

Лабораторное обследование у лиц без клинических проявлений, бывшие в контакте с больными сифилисом

- * Лица без клинических проявлений заболевания, бывшие в половом или тесном бытовом контакте с больными заразными формами сифилиса, если с момента контакта прошло не более 2 мес, должны быть обследованы как больные с подозрением на первичный сифилис:
 - * с помощью РМП (качественный и количественный вариант),
 - * РИФ или иммуноблоттинга;
 - * при возможности — ИФА-IgM или 19S-IgM-РИФ с абсорбцией.

Лабораторное обследование при подозрении на вторичный сифилис

- * Лица с клиническими проявлениями, подозрительными на наличие вторичного ^[L]_{SEP} сифилиса, должны быть обследованы с помощью:
 - * РМП (качественный и количественный вариант)
 - * в сочетании с РПГА, ИФА или РИФ (любой из трепонемных ^[L]_{SEP} тестов на выбор).

Лабораторное обследование при подозрении на третичный сифилис

- * Лица с клиническими проявлениями, подозрительными на наличие вторичного ^[L]_{SEP} сифилиса, должны быть обследованы с помощью:
 - * РМП (качественный и количественный вариант), ^[L]_{SEP}
 - * а также (желательно) двух трепонемных тестов
 - * один - «ранний»: ИФА, РИФ, ^[L]_{SEP}
 - * второй - «поздний»: РПГА, РИБТ.

Лабораторное обследование при подозрении на скрытый сифилис

- * Лица без клинических проявлений заболевания с подозрением на скрытый сифилис (ранний, поздний, неуточненный) должны быть обследованы с помощью:
 - * РМП (качественный и количественный вариант),
 - * а также (желательно) двух трепонемных тестов
 - * один - «ранний»: ИФА, РИФ, иммуноблоттинг,
 - * второй «поздний»: РИБТ, РПГА
- * Возможны следующие сочетания:
 - * ИФА или РИФ+РИБТ;
 - * ИФА или РИФ+РПГА;
 - * иммуноблоттинг+РПГА.

Обследование на сифилис беременных женщин

- * Беременные женщины обследуются на сифилис трижды – при постановке на учет, при сроке 18-20 и 32 неделя беременности.
- * Беременные женщины обследуются с использованием РМП (качественно и количественно) в сочетании с ИФА, РПГА, РИФ или иммуноблоттингом (1 реакция на выбор) в зависимости от возможностей лаборатории
- * При получении неоднозначных, разноречивых, труднотрактуемых результатов исследование дополняется РИБТ

Обследование детей, родившихся от перенесших сифилис женщин и не получивших лечение в полном объеме, или проходивших лечение по поводу сифилиса на фоне беременности

- * Необходимо обследовать с помощью
 - * РМП (качественный и количественный вариант)
 - * Тестов на выявление ранней инфекции — РИФ или иммуноблоттинга;
 - * При возможности 19S IgM-РИФ с абсорбцией или ИФА-IgM.
- * Ввиду простоты постановки и информативности возможно дополнение исследования методом РПГА в количественном варианте.

Обследование детей, родившихся от перенесших сифилис женщин, получивших лечение в полном объеме

- * Необходимо обследовать с помощью
 - * РМП (качественный и количественный вариант).
 - * При позитивном результате - с помощью ИФА на суммарные антитела или ИФА-IgG, РИФ или иммуноблоттинга (любая из реакций — на выбор)
 - * при возможности - 19S IgM-РИФ с абсорбцией или ИФА-IgM.

Дети при подозрении на поздний врожденный сифилис

- * Должны быть обследованы с помощью:
 - * РМП (качественный и количественный вариант)
 - * двух трепонемных тестов –
 - * «раннего» (ИФА, РИФ или иммуноблоттинг)
 - * и «позднего» (РПГА или РИБТ).

Достоверность лабораторных тестов на сифилис

- * Единственный достоверный лабораторный критерий диагноза сифилиса - обнаружение патогенной бледной трепонемы методом темнопольной микроскопии или ПЦР при наличии клинических симптомов сифилиса.
- * Серологические методы при наличии клинических симптомов сифилиса также достоверно подтверждают диагноз.
- * С осторожностью следует относиться к результатам серологического исследования, если клинические симптомы заболевания отсутствуют. При этом необходимо учитывать все дополнительные сведения, способствующие установлению диагноза (анамнез, данные конfrontации, результаты обследования трепонемными тестами).



Вопросы?