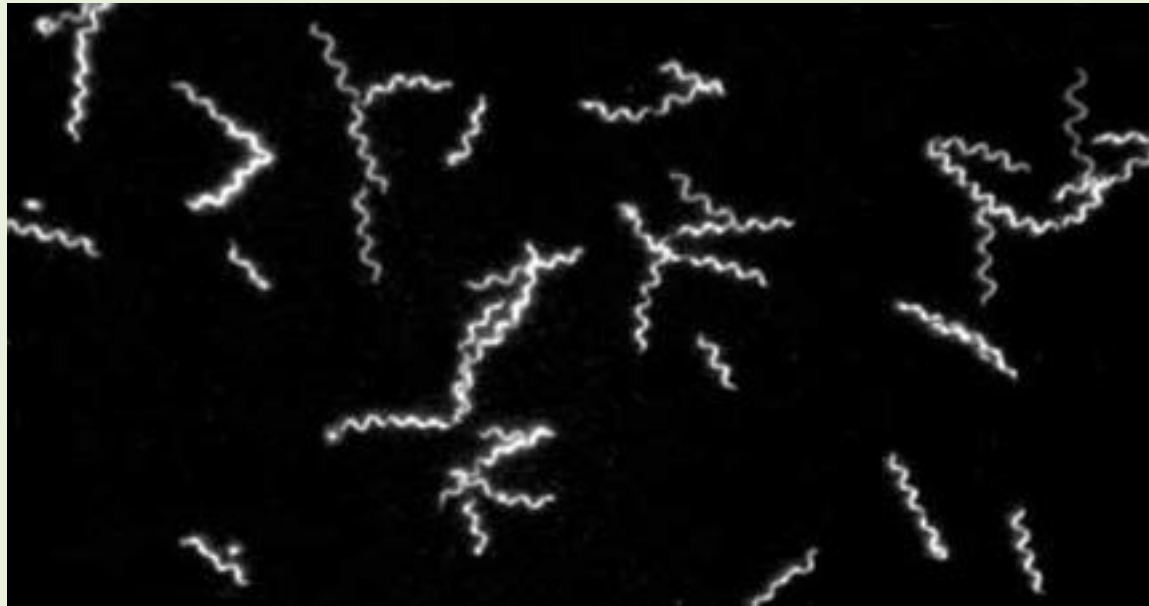


ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА



Возбудитель сифилиса

Возбудителя сифилиса — бледную трепонему (*treponema pallidum*) — открыли в 1905 г. Ф.Шаудин и Э. Гофман.

Бледную трепонему можно обнаружить в

- отделяемом из твердых шанкров, эрозивных папул,
- в лимфатических узлах,
- крови больных,
- всех экссудатах у больных активным вторичным сифилисом,
- спинномозговой жидкости,
- молоке кормящих матерей,
- миндалинах и слизи пробки канала шейки матки больных скрытым сифилисом,
- в головном мозге у больных прогрессивным параличом и спинном мозге у больных табесом.

Моча, слезы, пот, слюна бледных трепонем не содержат, но могут инфицироваться ими в выводящих путях.

Бледная трепонема существует в трех формах: **спиралевидной в виде цист и L-форме.**

При заразных формах сифилиса доминирует спиралевидная форма; число оборотов спирали от 8 до 12, ее завитки равномерны, имеют идентичное строение.

Основным способом размножения бледной трепонемы на стадии активного роста является поперечное деление.

Возбудитель сифилиса

У спиралевидных микроорганизмов имеются формы устойчивого размножения — **цисты**, которые позволяют бледной трепонеме выживать в неблагоприятных условиях. Возможна **L-трансформация** микробной клетки. При ней происходит частичная или полная утрата клеточной стенки бледной трепонемы, снижается метаболизм и нарушаются процессы клеточного деления.

L-формы бледных трепонем обладают незначительной патогенностью, не вызывают явных проявлений сифилиса, но могут поддерживать серологическую резистентность. Когда условия для жизни становятся благоприятными, L-формы реверсируют в обычные подвижные формы и иногда вызывают рецидив болезни.

Цисты обладают антигенными свойствами, способствуют образованию в организме человека антител, что выявляется положительными серологическими тестами.

У **L-форм** антигенные свойства выражены незначительно или отсутствуют, поэтому лица, в организме которых бледные трепонемы имеют L-формы, являются серологически негативными или у них при отрицательных стандартных серологических реакциях могут быть положительные реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ) и реакция иммунофлюоресценции (РИФ).

Возбудитель сифилиса

Единственным резервуаром бледных трепонем в природе является больной человек.

Бледная трепонема быстро погибает при высыхании, но на влажном белье может жить до 11 ч.

Замороженные бледные трепонемы долго сохраняют жизнеспособность и вирулентность. Сначала пропадает вирулентность и только потом подвижность.

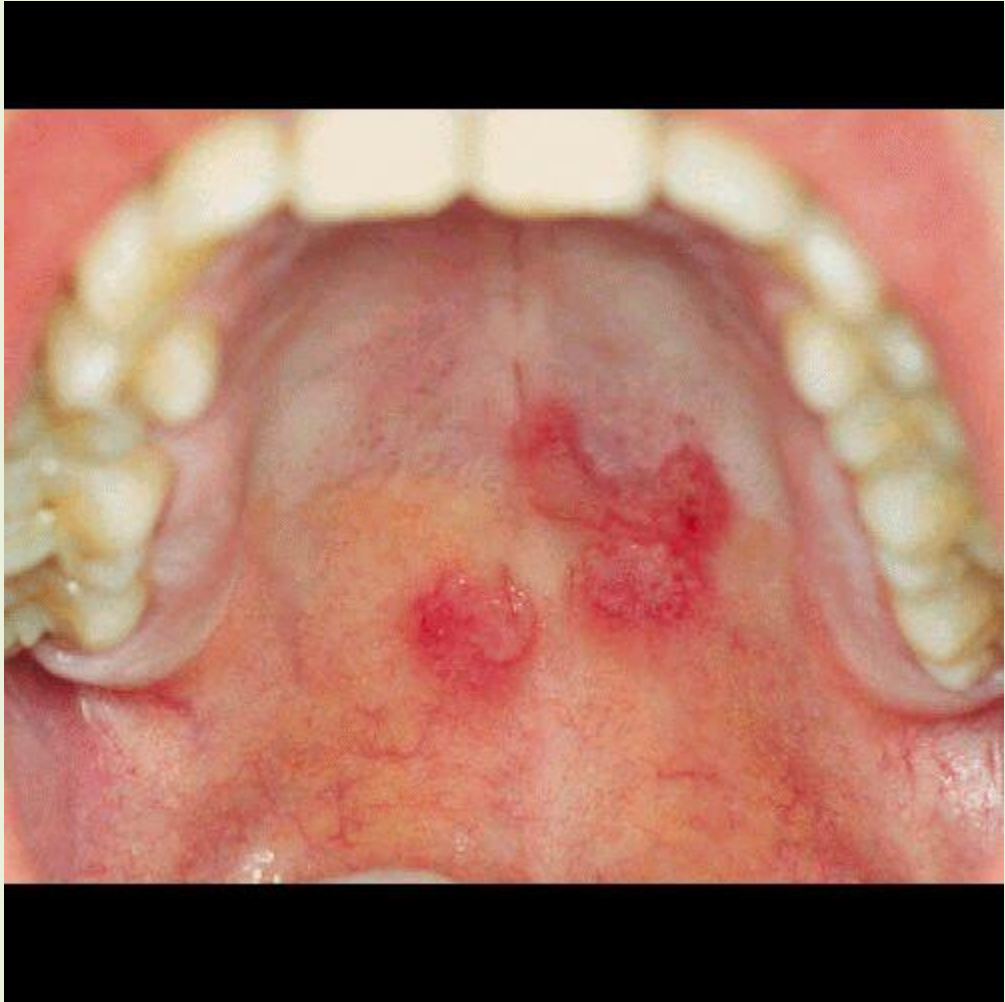
В тканях трупов бледные трепонемы могут сохранять подвижность до 48 ч.

Оптимальной температурой для трепонемы является 36,5 — 37,0 °С.

При 55 °С она погибает в течение 15 мин.

Бледная трепонема весьма чувствительна к химическим веществам и кислороду (является факультативным анаэробом).







(c) University Erlangen,
Department of Dermatology
Phone: (+49) 9131-85-2727









Иммунитет при сифилисе

При сифилитической инфекции в организме больного развивается *нестерильный инфекционный иммунитет*, который возникает как ответная реакция организма на наличие в нем возбудителя и существует до тех пор, пока в организме находится бледная трепонема.

В ответ на присутствие бледной трепонемы (антигена) образуются антитела — иммуноглобулины.

Гуморальный ответ на внедрение бледной трепонемы в макроорганизм начинается с выработки специфических антител IgM. Позже нарастает содержание IgG и IgA. Наличие специфических IgM рассматривается как признак начала заболевания. Обнаружение трепонемоспецифичных IgM позволяет диагностировать приобретенную инфекцию в наиболее ранние сроки, так как эти иммуноглобулины появляются уже через 2 недели после заражения. Выявление IgM имеет большое значение в инкубационном периоде и на ранних этапах развития сифилитической инфекции. **Доказано несоответствие диагностической значимости IgM, выявляемых при ИФА, при диагностике ранних и более поздних форм сифилиса. Метод малочувствителен для вторичного рецидивного, скрытого раннего и позднего сифилиса.**

Антитела класса G появляются не ранее чем через 4 недели после заражения.

Уровень IgG преобладает над уровнем IgM при массовой гематогенной диссеминации бледных трепонем (вторичный свежий сифилис).

Активация сифилитической инфекции, сопровождающаяся рецидивом клинических проявлений (вторичный рецидивный сифилис), характеризуется максимальным уровнем IgG и минимальным — IgM.

Латентное состояние инфекции, ассоциированное с отсутствием каких-либо клинических проявлений и снижением количества бледных трепонем (ранний скрытый сифилис), вызывает подавление антителообразования. Синтез IgG и IgM по сравнению с вторичным рецидивным сифилисом снижается в 1,8 раза.

Ранние антитела IgM и более поздние антитела IgG направлены к одним и тем же антигенам. По мере снижения выработки антител IgM продукция IgG продолжается. Совместное исследование антител, представленных этими классами, более информативно. Установлена корреляция между содержанием и соотношением антитрепонемных антител классов IgM и IgG с клинической формой сифилиса.

По мере увеличения сроков давности заболевания иммунологическая реактивность больного изменяется:

- наблюдается постепенное снижение гуморального иммунитета
- повышение клеточной иммунологической реактивности.

Это подтверждается тем, что в период третичного сифилиса развиваются специфические гранулемы (бугорки и гуммы), являющиеся типичными проявлениями клеточных реакций замедленного типа. **В этот период классические серологические реакции нередко могут быть отрицательными.**

Лабораторная диагностика сифилиса

На ранних стадиях заболевания наиболее достоверным методом диагностики сифилитической инфекции является **выявление бледных трепонем.**

Наилучшим способом их обнаружения является **метод исследования в темном поле микроскопа**, что позволяет увидеть трепонему в живом состоянии со всеми особенностями ее строения и движения.

Забор материала для исследования проводится в основном с поверхности твердого шанкра, эрозированных папул и широких кондилом. Возможно выявление трепонемы в материалах регионарных лимфатических узлов.

Для получения тканевой жидкости поверхность шанкра осторожно очищают от загрязнений стерильным тампоном, смоченным физиологическим раствором. Затем инфильтрат захватывают двумя пальцами и слегка сдавливают с боков, а эрозию осторожно поглаживают микробиологической платиновой петлей до появления тканевой жидкости. Каплю полученной жидкости переносят петлей на стекло, предварительно обезжиренное смесью спирта с эфиром. Приготовленный препарат с живыми трепонемами изучают в светооптическом микроскопе с темнопольным конденсором.

Если после однократного исследования патогенные трепонемы не выявлены, сифиломы следует промыть физиологическим раствором и затем провести повторное исследование.

Однако даже многократный отрицательный результат исследования на бледную трепонему не может исключить сифилис.

Серологическая диагностика применяется для подтверждения клинического диагноза сифилиса, постановки диагноза скрытого сифилиса и контроля за эффективностью лечения.

В иммунном ответе организма принимают участие как клеточные, так и гуморальные механизмы (синтез специфических антител).

Появление противосифилитических антител происходит в соответствии с общими закономерностями иммунного ответа:

- вначале вырабатываются **IgM**,
- по мере развития болезни начинает преобладать синтез **IgG**;
- **IgA** в сыворотке крови присутствуют в сравнительно небольших количествах.

Специфические IgM к белковым антигенам появляются на 2—4-й неделе после заражения и исчезают у нелеченных больных примерно через 3—4 мес, при лечении раннего сифилиса — через 2 — 3 мес.

Специфические IgG возникают обычно на 4-й неделе после заражения. Антитела этого класса могут сохраняться длительное время даже после клинического излечения больного.

В зависимости от характера определяемых антител все серологические реакции на сифилис подразделяют на:

- **специфические (трепонемные)** и
- **неспецифические (нетрепонемные).**

Современные методы специфической серологической диагностики сифилиса основаны на выявлении антител разных классов.

Трепонемными реакциями являются РПГА, ИФА и РИФ.

Неспецифические реакции основаны на выявлении в организме больного преимущественно противOLIпидных антител (реагины).

Нетрепонемные реакции — с кардиолипин-лецитин-холестериновым антигеном — **VDRL** (Venereal Disease Research Laboratory), экспресс-метод определения сывороточных реагинов **RPR** (Rapid Plasma Reagin), реакция микропреципитации (**РМП**).

К неспецифическим реакциям, имеющим историческое значение, относится **реакция Вассермана**, основанная на реакции связывания комплемента (**РСК**).

С 2006 г. этот метод выведен из комплекса скрининговых и диагностических реакций для выявления сифилиса.

Впервые эта реакция была применена в 1906 г. Реакция ставится с двумя антигенами: кардиолипиновым и трепонемным, приготовленными из разрушенной ультразвуком трепонемы Рейтера. Реакция Вассермана становится положительной через 2 — 3 недели после появления твердого шанкра или на 5 — 6-й неделе после заражения.

Реакция Вассермана может давать неспецифические положительные результаты при бактериальных инфекциях, системной красной волчанке, у больных со злокачественными новообразованиями, нередко у беременных на 8 — 9-м месяце беременности и др.

Наиболее достоверным из нетрепонемных тестов является **реакция микропреципитации (микрореакция)**. Этот тест ставится с кардиолипиновым антигеном и в модификации с кардиолипиновым и трепонемным антигенами. Микрореакция используется для проведения **отборочных исследований**, так как она обладает высокой чувствительностью и специфичностью, особенно при вторичном (100%) и скрытом (98 %) сифилисе и хорошо сочетается с подтверждающими диагноз трепонемными тестами. Данная методика позволяет объективно оценить эффективность лечения (по скорости снижения титра реагинов) и сформулировать диагноз серорезистентности.

В основе **специфических серологических реакций** лежит выявление антител к бледной трепонеме. Эта группа включает **РИФ, РИБТ и реакцию пассивной гемагглютинации (РИГА)**.

Принцип **реакции иммунофлюоресценции** заключается в том, что **исследуемой сывороткой** обрабатывается **антиген**, который представляет собой **бледную трепонему штамма Никольса**, полученную из зараженной сифилисом ткани яичка кролика.

После промывания препарат обрабатывают люминесцентной сывороткой против глобулинов человека.

Флюоресцирующий комплекс связывается с человеческим иммуноглобулином на поверхности бледной трепонемы и может быть идентифицирован методом люминесцентной микроскопии.

Реакция иммунофлюоресценции становится положительной в начале 3-й недели после заражения и является **методом ранней диагностики сифилиса**. Нередко реакция остается положительной и спустя несколько лет после полноценного лечения.

Реакция иммобилизации бледных трепонем

заключается в том, что при смешивании сыворотки больного со взвесью живых патогенных бледных трепонем в присутствии комплемента утрачивается их подвижность.

Выявляемые в этой реакции **иммобилизины** относятся к **поздним антителам**; они появляются позже комплементсвязывающих антител и достигают максимального титра к 10-й неделе болезни.

Для ранней диагностики сифилиса эта реакция непригодна.

Для **иммуноферментного анализа** используются панели, в лунки которых нанесен **трепонемный антиген**. В лунки вносят **исследуемую сыворотку**. При наличии в сыворотке антител против бледных трепонем образуется комплекс **антиген – антитело**, связанный с поверхностью носителя. На следующем этапе в лунки наливают антивидовую (против глобулинов человека) сыворотку, меченную ферментом (пероксидазой хрена). Меченые антитела взаимодействуют с комплексом антиген — антитело, образуя новый комплекс. Для его выявления в лунки наливают индикатор (тетраметилбензидин). Под действием фермента субстрат меняет цвет, что указывает на положительный результат реакции.

Реакция пассивной гемагглютинации имеет универсальное значение и применяется как скрининговый метод исследования и тест подтверждения наличия сифилиса. Метод заключается в том, что при соединении сыворотки крови, содержащей специфические антитела, с эритроцитами, сенсibilизированными соответствующим антигеном, наблюдается их характерная агглютинация. Реакция становится положительной с 4 —5-й недели заражения.

Для повышения информативности серологической диагностики сифилиса перспективно использование *метода иммуноблоттинга*, позволяющего выявлять антитела к отдельным антигенам возбудителя. Преимуществом этого метода является меньшая доля неопределенных результатов, связанных с дифференцировкой активного инфекционного процесса и «анамнестических» положительных реакций.

**Нормативные документы,
регламентирующие диагностику
сифилиса в РФ**

Приказ №87 от 26 марта 2001 года: «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса»

Последовательность обследования пациентов на сифилис представляется следующим образом:

- при первичном обследовании** производится постановка отборочной (скрининговой) реакции микропреципитации (РМП) или ее модификации (RPR- РПР) в количественном и качественном вариантах и в случае **положительного** результата - любого специфического подтверждающего **трепонемного теста** (РПГА, ИФА, КСР, РИФ, РИТ);
- после окончания терапии** ставится РМП или ее модификация и по снижению титра судят о динамике инфекционного процесса и эффективности терапии. Подтверждением эффективности проведенной терапии считается снижение титра в 4 и более раз в течение 1 года;
- по окончании** этого срока осуществляется постановка той же специфической реакции, что и при первичном обследовании. Следует учитывать, что специфические трепонемные тесты могут оставаться положительными (не негативировать) в течение ряда лет, а в отдельных случаях остаются положительными на всю жизнь.

Приказ МЗ России №87 от 26.03. 01

Отборочные тесты: МП(RPR, TRUST, VDRL), РСКкард

Подтверждающие тесты: РПГА, ИФА, РСКтреп, РИФ, РИТ

Контроль эффективности лечения:

МП(RPR, TRUST, VDRL) или РСКкард

Поскольку **ИФА** и **РПГА** являются более высокочувствительными, специфическими и воспроизводимыми тест - системами, которые можно использовать в качестве отборочных и подтверждающих тестов, осуществить до **2006 г.** замену комплекса серореакций (КСР) вышеуказанными реакциями при диагностике сифилиса

2006 год

Отборочные тесты:

МП (RPR, TRUST, DRL), ИФА или РПГА

Подтверждающие тесты: ИФА или РПГА

Контроль эффективности лечения:

МП (RPR, TRUST, VDRL)