

Федеральное Государственное учреждение
«Уральский научно-исследовательский институт
дерматовенерологии и иммунопатологии
Федерального Агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»
620076 г. Екатеринбург ул. Щербакова, 8

**Клиническая интерпретация результатов
серологических тестов при обследовании
на сифилис пациентов без клинических
проявлений инфекции**

(Медицинская технология)

Екатеринбург, 2008

АННОТАЦИЯ

Технология содержит алгоритмы по клинической интерпретации результатов серологических тестов у пациентов без клинических проявлений сифилитической инфекции и при наличии противоречивых результатов серологических тестов сыворотки крови. Внедрение данных алгоритмов позволит дерматовенерологам оптимизировать диагностику скрытого сифилиса и сократить диагностический период. Использование алгоритмов приведет к назначению специфической терапии в более ранние сроки, что предотвратит развитие поздних форм сифилиса, а также уменьшит количество диагностических ошибок в отношении пациентов с положительными серологическими реакциями на сифилис.

Технология предназначена для дерматовенерологов специализированных лечебно-профилактических учреждений.

Организация-заявитель: Федеральное Государственное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»

Организация – разработчик: Федеральное Государственное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»

Авторы: В.И.Сурганова,Н.В.Полякова,Н.П.Евстигнеева,Ю.А.Медведева

Рецензенты:

1 Китаева Н.В - В.н.с. отделения сифилидологии ,к.м.н.. «ФГУ Государственный центр дерматовенерологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»

2.Гладько В.В-Начальник кафедры дерматовенерологии Государственного института усовершенствования врачей Министерства Обороны РФ докт. мед. наук, профессор

1. Введение.

В настоящее время наблюдается увеличение регистрации скрытых форм сифилиса, а также раннего и позднего нейросифилиса. Для подтверждения диагноза «сифилис» у пациентов с клиническими проявлениями инфекции лабораторная диагностика является важным фактором в постановке окончательного диагноза, у больных же скрытыми формами сифилиса – основным. В связи с этим огромное значение имеет выбор методик, применяемых для диагностики сифилиса. Для совершенствования лабораторной диагностики сифилиса, повышения качества работы и обеспечения единства подхода по ее организации утверждены методические указания в виде приказа №87 МЗ РФ от 26.03.01г «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса», в которых перечислены трепонемные и нетрепонемные тесты, применяемые на территории Российской Федерации. К нетрепонемным реакциям относится микрореакция преципитации (РМП) и ее аналоги (чувствительность до 70%-90% при ранних формах сифилиса и до 30% при поздних, ложноположительные результаты встречаются до 2,5%):

1. РМП – микрореакция с плазмой и инактивированной сывороткой
2. RPR – тест быстрых плазменных реагинов (Rapid Plasma Reagins)
3. VDRL – Venereal Disease Research Laboratory
4. TRUST – тест с толуидиновым красным и непрогретой сывороткой (Toluidin Red Unheated Serum Test)

Трепонемные тесты, регламентированные приказом № 87, имеют чувствительность от 90% до 100% , и включают следующие реакции:

РПГА – реакция пассивной гемагглютинации; (ТРНА- Treponema pallidum haemagglutination; тест-системы «Syphilis ТРНА-test», «ТРНА-posticon», «Syphilis ТРНА-200», «Syphilis ТРНА», «Люис РПГА тест»);

ИФА – иммуноферментный анализ (Enzymelynced immunosorbent assay)(ELISA), тест-системы «РекомбиБест антипаллидум», «РекомбиБест антипаллидум-стрип», «РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела», «ИФА-АНТИ-LUIS», «Тест-система иммуноферментная для выявления антител к возбудителю сифилиса (*Treponema pallidum*) на основе рекомбинантных белков», «Люис-скрин», «ЭКОлаб-антипаллидум-скрин», «ИФА-анти-трепонема», «АТ-Треп-ИФТС», «Сиф-Ат-№№1,2», «ИФАанти-СИФ»;

РИБТ (РИТ) – реакция иммобилизации бледных трепонем (*Treponema pallidum immobilization test*);.

РИФ – реакция иммунофлуоресценции (РИФабс, РИФ200, РИФц)

Методики РПГА и ИФА являются одновременно высокоэффективными отборочными и подтверждающими тестами. Особенности конструирования и практического использования тест-систем для ИФА обеспечивают ряд дополнительных резервов. Применение тест-систем для ИФА открывает возможность определения не только суммарных антител, но и противотрепонемных иммуноглобулинов класса G и M. Это позволяет выбирать оптимальное сочетание тестов для постановки диагноза сифилис у пациентов с отсутствием клинических проявлений сифилиса.

Сочетание сифилиса с ВИЧ-инфекцией, вирусными гепатитами В и С, наркоманией приводит к изменению иммунологической реактивности больных сифилисом, в связи с чем возникает возможность появления отрицательных или слабоположительных результатов серологических тестов, что приводит к поздней диагностике заболевания и развитию поздних форм сифилиса.

Таким образом, правильная интерпретация результатов серологических реакций на основе разработанных алгоритмов сочетания трепонемных и нетрепонемных тестов позволит врачу своевременно установить точный диагноз и назначить специфическую терапию.

Показания к применению медицинской технологии.

Обследование пациентов на сифилис при отсутствии клинических проявлений инфекции

Противопоказания к использованию медицинской технологии.

Отсутствуют.

Материально-техническое обеспечение медицинской технологии.

При обследовании сывороток больных сифилисом нами применялись следующие методики:

1. Микрореакция преципитации с кардиолипидным антигеном (набор «Люис-тест» производства НПО Диагностические системы) регистрационное удостоверение № ФСР 002884/01 от 10.09.03.
2. Реакция пассивной гемагглютинации с определением титра противосифилитических антител (тест-система «ТРНА 500» BIORAD Франция,) регистрационное удостоверение № ФС 2006/134 от 06.02.08
3. Иммуноферментный анализ на выявление противотрепонемных антител класса IgG и определение коэффициента позитивности («Рекомбибест антипаллидум-стрип» ЗАО ВекторБест г.Новосибирск,) регистрационное удостоверение № ФСР 2007/00616 от.17.08.2007.
4. Иммуноферментный анализ на выявление противотрепонемных антител класса IgM и определение титра антител. («Рекомбибест антипаллидум IgM -стрип» ЗАО ВекторБест г.Новосибирск,) регистрационное удостоверение ФСР № 2007/01008 от 25.10.2007.
5. Иммуноферментный анализ на выявление суммарных противотрепонемных антител (« РекомбиБест антипаллидум суммарные антитела-стрип» ЗАО ВекторБест г. Новосибирск) регистрационное удостоверение № ФСР 2007/00614 от 17.08.2007.

Описание медицинской технологии

Принцип серологической диагностики сифилиса состоит в определении антител с помощью отборочной реакции и последующем подтверждении положительных результатов. Подтверждающие тесты не должны уступать отборочному по чувствительности и специфичности, что позволяет снизить риск получения ложноположительных результатов. Количественную оценку результатов нетрепонемного теста и выявление специфических IgM методом ИФА можно использовать при определении стадии инфекции и эффективности лечения.

Экспертиза сложных диагностических случаев проводится с использованием РИФ и РИБТ.

Для проведения скрининга рекомендуется проведение одного из тестов: РМП или ее аналогов в полуколичественном варианте, РПГА, ИФА, выявляющих одновременно специфические Ig M и Ig G (ИФА сат), также количественно, с определением титра антител. Метод РИФ-абс используется в тех случаях, когда другие методы дают противоречивые результаты. РИБТ используется для дифференциальной диагностики с ложноположительными реакциями на сифилис и диагностике нейросифилиса.

Возможные варианты получаемых результатов серологических тестов и их интерпретация:

1. нетрепонемные и трепонемные тесты положительные (больные сифилисом любой стадии, пациенты с сифилисом в анамнезе);
2. нетрепонемные тесты отрицательные, трепонемные тесты положительные (пациенты с сифилисом в анамнезе, больные скрытым сифилисом, больные первичным сифилисом, инкубационный период, ЛПСР);
3. нетрепонемные тесты положительные, трепонемные тесты отрицательные (ложноположительные серологические реакции).

На рисунке 1 представлена оценка результатов серологических тестов, которая базируется на одновременном применении РМП и ИФА с определени-

ем суммарных антител. В случае совпадения результатов ИФА и РМП для постановки окончательного диагноза необходимо проведение второго подтверждающего теста РПГА или РИФа_{бс}, при однонаправленных результатах трепонемных тестов диагноз скрытого сифилиса подтверждается, при не совпадении - пациент нуждается в повторном серологическом обследовании через 2 недели. При несовпадении результатов ИФА и РМП, можно рассмотреть два варианта различных тактических решений.

1 вариант ИФА_{сат}(+) , РМП (-)-данная ситуация может наблюдаться у пациентов с сифилисом в анамнезе и при раннем скрытом сифилисе с длительностью заболевания до 3-5 недель.

2 вариант ИФА_{сам}(-),РМП(+)_с может регистрироваться у пациентов с ложноположительными серологическими реакциями на сифилис. Для установления окончательного диагноза пациентам с серологическими показателями как 1 так и 2 вариантов необходимо исследование сыворотки крови методами РПГА или РИФа_{бс}. Положительные результаты трепонемных тестов РПГА или РИФ у пациентов с 1 вариантом серологических показателей, подтверждает наличие сифилитической инфекции в анамнезе или наличие сифилиса на момент обследования. Важно выяснить получал ли пациент, специфическую терапию и в каком объеме, если данных о проведенной терапии нет, устанавливается диагноз скрытого сифилиса. Наличие у данных пациентов отрицательных подтверждающих тестов РПГА или РИФ абс, свидетельствует о диагнозе «сифилис в анамнезе».

Положительные подтверждающие тесты РПГА или РИФа_{бс} у пациентов со 2 вариантом серологических показателей, может свидетельствовать о неспецифической реакции иммуноферментного анализа, что требует повторного серологического исследования через 2-3 недели, но уже обязательно с применением двух подтверждающих тестов, как РПГА, так и РИФ абс. При регистрации отрицательных результатов тестов РПГА или РИФ абс у пациентов со

2 вариантом серологических показателей устанавливается диагноз «ложноположительные серологические реакции на сифилис». Таким образом, для постановки диагноза скрытый сифилис или его исключения, необходимо проведение одновременно двух современных высокочувствительных и специфичных трепонемных тестов (ИФА и РПГА или ИФА и РИФабс). Это снижает процент неверных диагностических заключений при ошибочных результатах одного из тестов. В случае расхождения этих результатов - проведение еще и третьего (подтверждающего) теста, в качестве которого рекомендуется использовать РИБТ.

Использование двух модификаций иммуноферментного анализа - с изолированным определением IgG и IgM предоставляет дополнительные диагностические возможности для определения возможной длительности заболевания при скрытом сифилисе. Положительный результат ИФА IgM свидетельствует о раннем скрытом сифилисе (ориентировочно - до 2-3 месяцев от момента заражения), однако отсутствие Ig M не исключает диагноз ранний скрытый сифилис и может быть обусловлено недостаточной чувствительностью тест-систем для выявления IgM-антител к возбудителю сифилиса. Вместе с тем, изолированная позитивность ИФА IgM может быть единственным серологическим маркером заболевания и позволяет выявить ранний скрытый сифилис на ранних сроках от момента заражения.

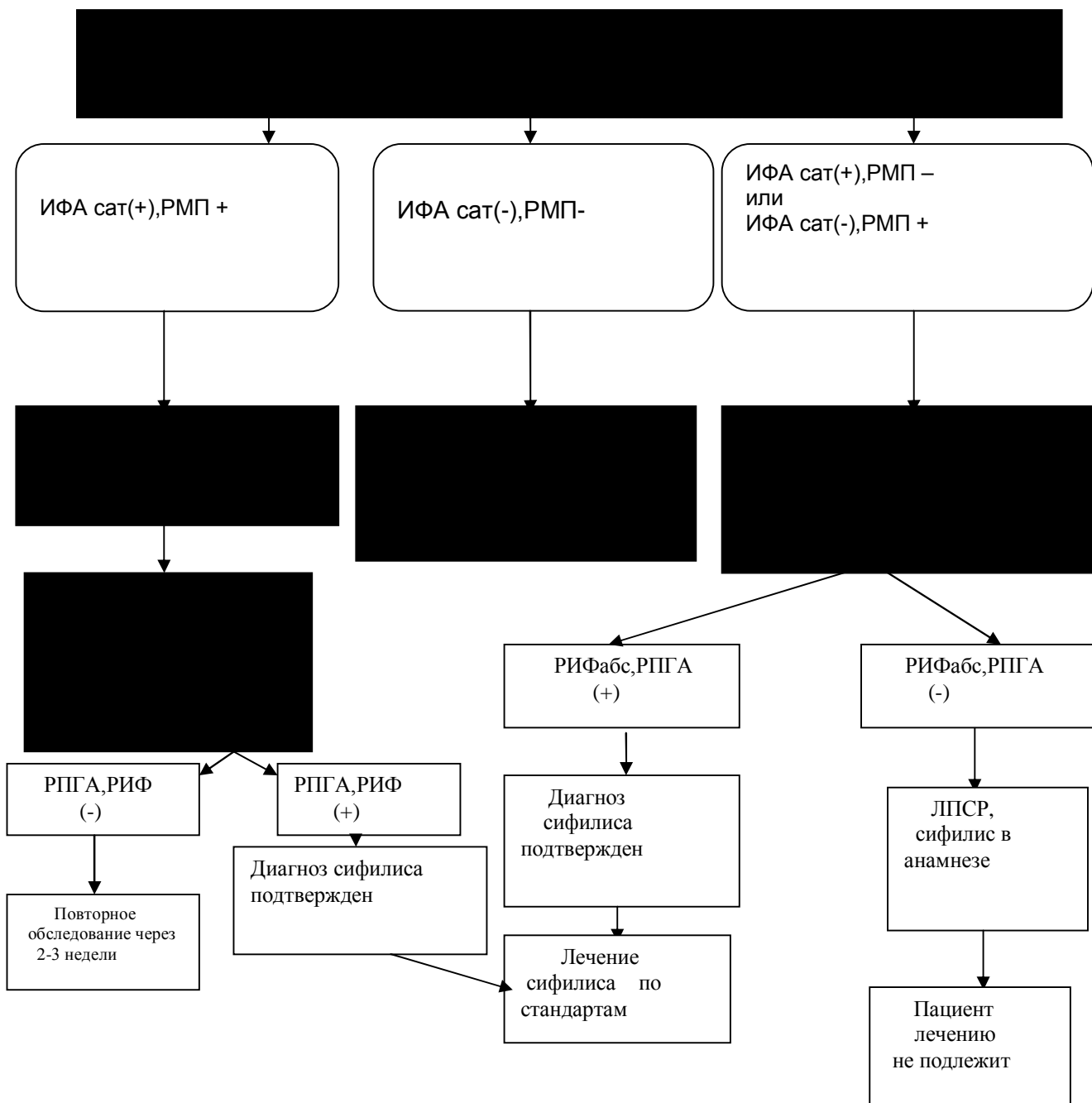


Рис. 1. Алгоритм диагностического обследования в зависимости от комбинаций результатов ИФА и РМП.

На рисунке 2 представлена интерпретация результатов ИФА при обследовании пациентов без клинических проявлений сифилиса.

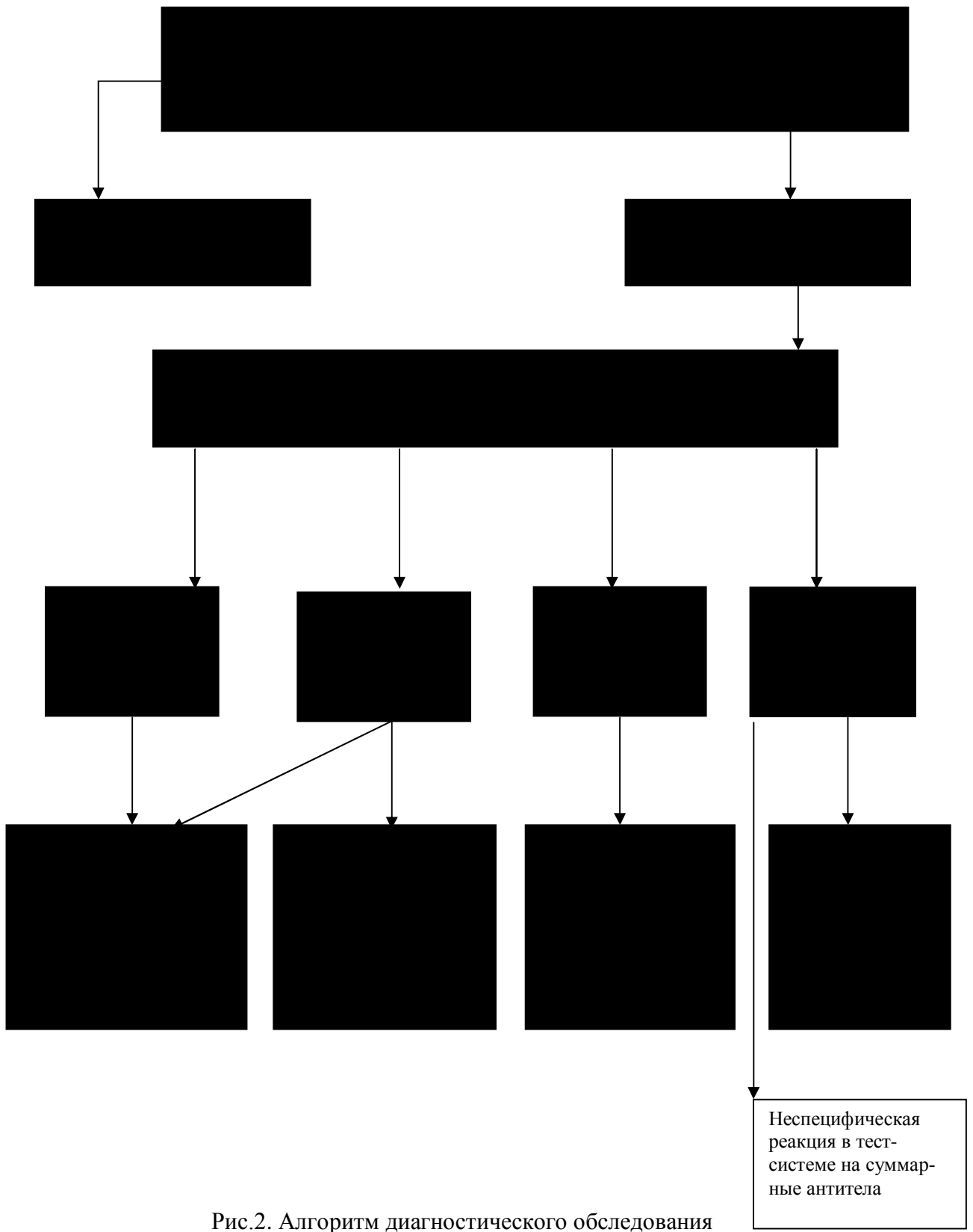


Рис.2. Алгоритм диагностического обследования методом ИФА

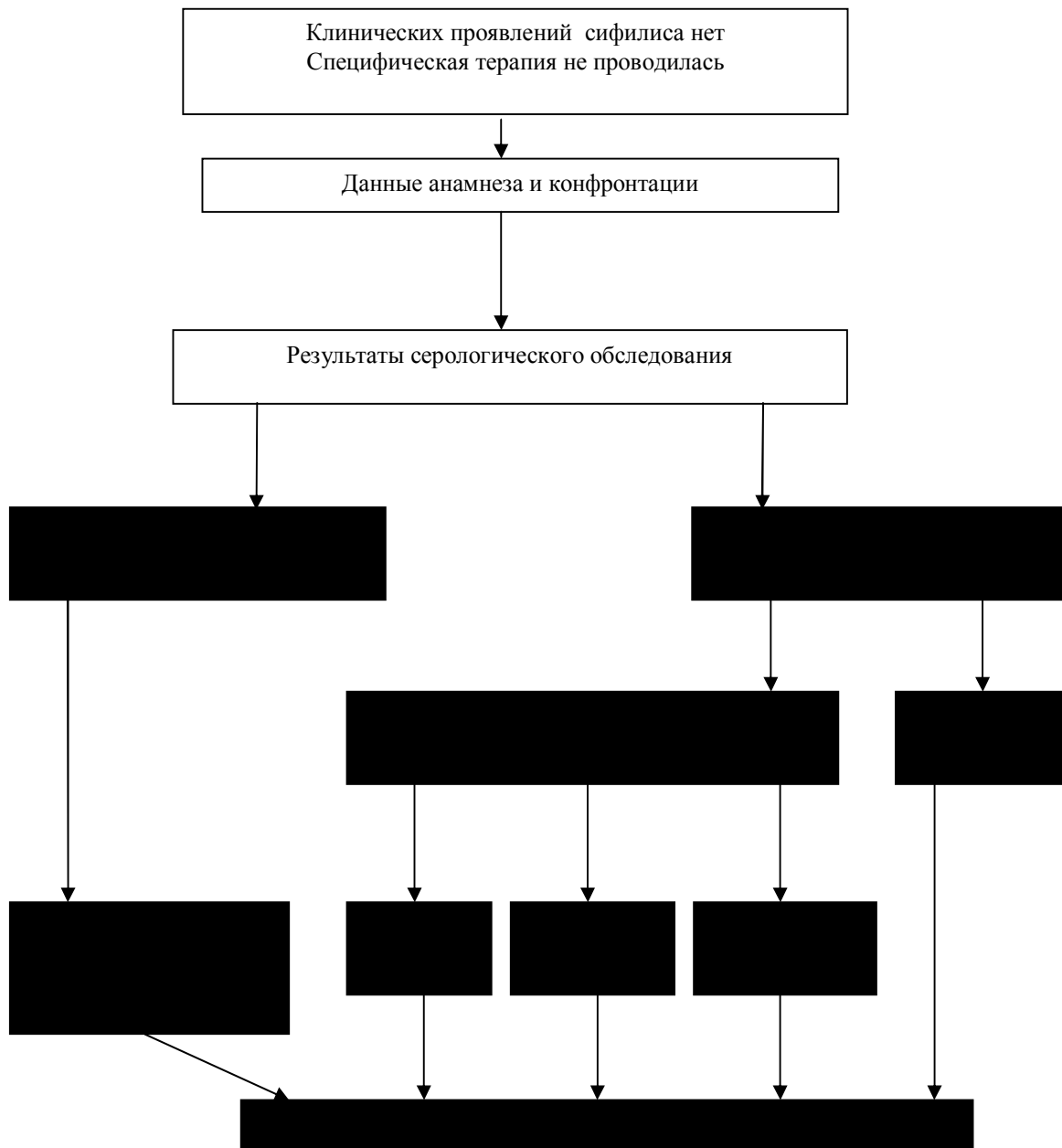


Рис.3. Комбинация трепонемных и нетрепонемных тестов у больных поздним скрытым сифилисом

Диагноз позднего скрытого сифилиса(рис.3) устанавливается на основании: -данных анамнеза (наличия клинических проявлений сифилиса в период более 2-х лет от момента заражения),- данных конfrontации (наличие у полового партнёра или источника заболевания поздней формы сифилиса или его отсутствие),- наличие низких титров реагинов в нетрепонемных тестах, отсутствие клинических проявлений инфекции настоящее время. Для вери-

фикации данной формы инфекции обязательно проведение обследования пациента окулистом, неврологом, отоларингологом, терапевтом, а также проведение рентгенографии грудной клетки или УЗИ для исключения специфического поражения восходящего участка аорты, спинномозговая пункция для исключения специфического поражения нервной системы.

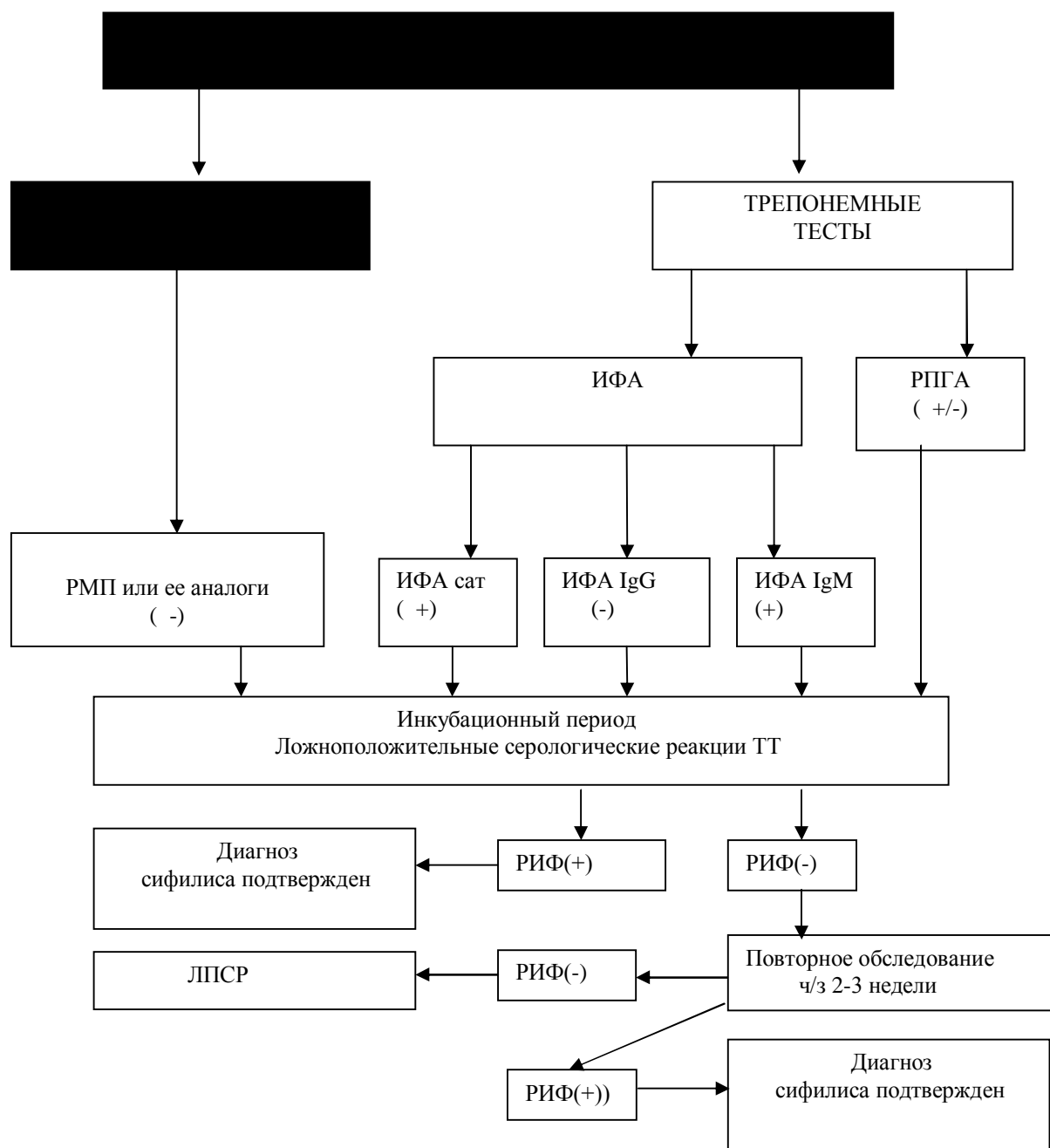


Рис.4.Интерпретация НТТ и ТТ при диагностике ЛПСР и сифилиса.

Результаты НТТ и ТТ серологических тестов, приведенных на рисунке 4, могут соответствовать инкубационному периоду сифилиса либо ложноположительным серологическим реакциям (ЛПР) на сифилис. Для дифференциального диагноза ЛПР и инкубационного периода сифилиса, необходимо проведение подтверждающего теста РИФ. При отрицательном результате подтверждающего теста, возникает необходимость в повторном обследовании через 2-3 недели для определения наличия противотрепонемных антител. Их выявление при повторном обследовании доказывает инфицирование пациента бледной трепонемой и обосновывает необходимость проведения специфической терапии. Наличие отрицательного результата РИФаbc через выше названный период времени, указывает на то, что у пациента регистрируется ЛПСР, что не требует проведения лечения.

Известно, что IgM исчезают без лечения в сроки до 4-6 месяцев, после лечения раннего сифилиса - через 1-2 месяца, что является важным критерием оценки эффективности лечения.

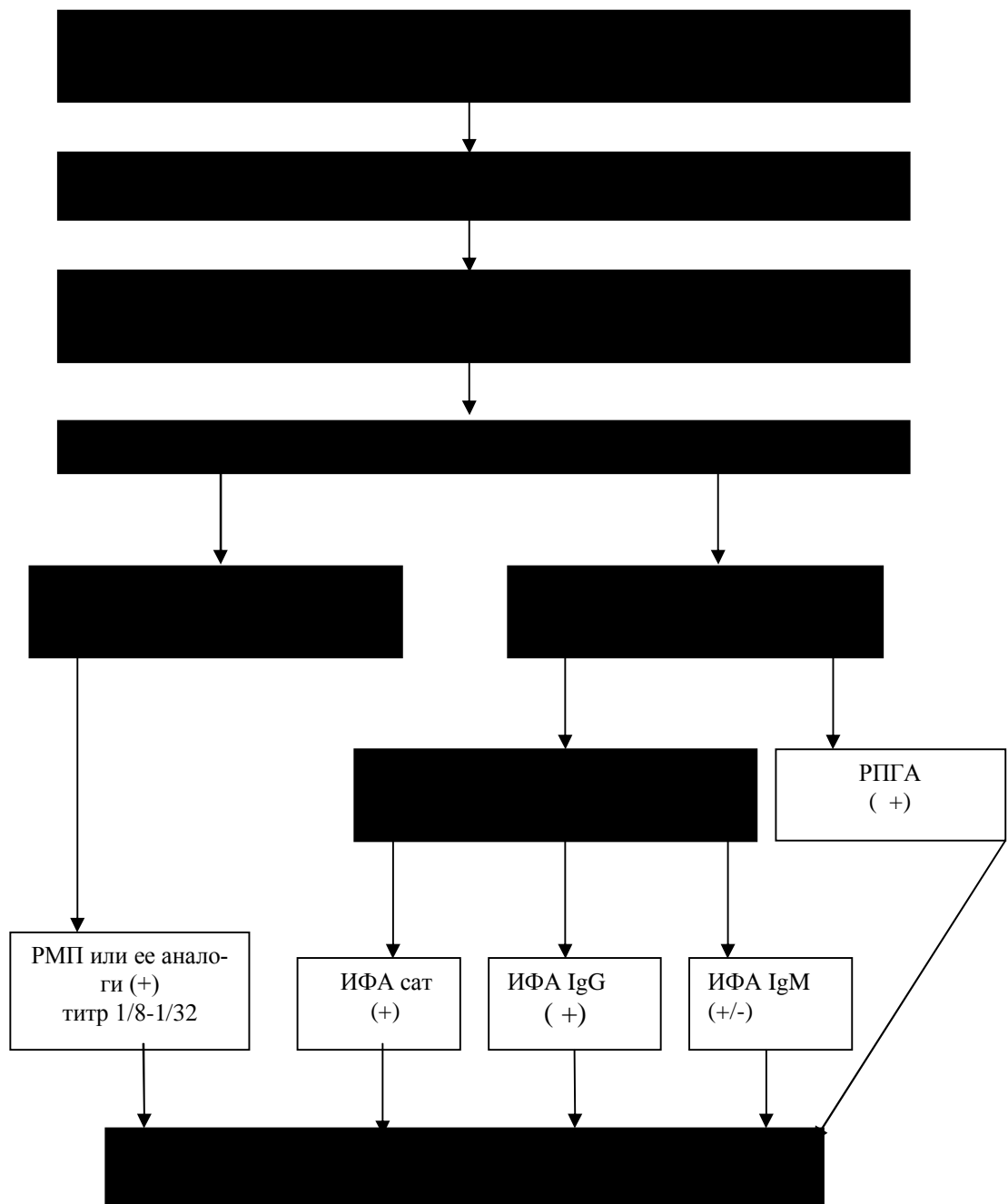


Рис.5 . Комбинация трепонемных и нетрепонемных тестов у больных ранним скрытым сифилисом.

На рисунке 5 приводится алгоритм по постановке диагноза ранний скрытый сифилис. Для подтверждения данного диагноза необходимо установить давность существования специфической инфекции, которая базируется на основании:

- данных анамнеза (наличие клинических проявлений сифилиса в срок до 2-х лет от момента заражения, отрицательные результаты обследования на сифилис до 2 лет до настоящего обследования) данные осмотра- клинически выявляются пигментные пятна на местах локализации специфических высыпаний, рубец в области половых органов с уплотнением в основании на месте прежней локализации твердого шанкра);

- данных конfrontации (заразная форма сифилиса или ранний скрытый сифилис у полового партнера или источника заболевания);

- наличия Ig M- антител и высоких титров нетрепонемных тестов(1/8- 1/32)

Положительный результат ИФА gM– основание для постановки диагноза «ранний срытый сифилис». В то же время, отрицательный результат ИФА IgM не является критерием исключения раннего скрытого сифилиса.

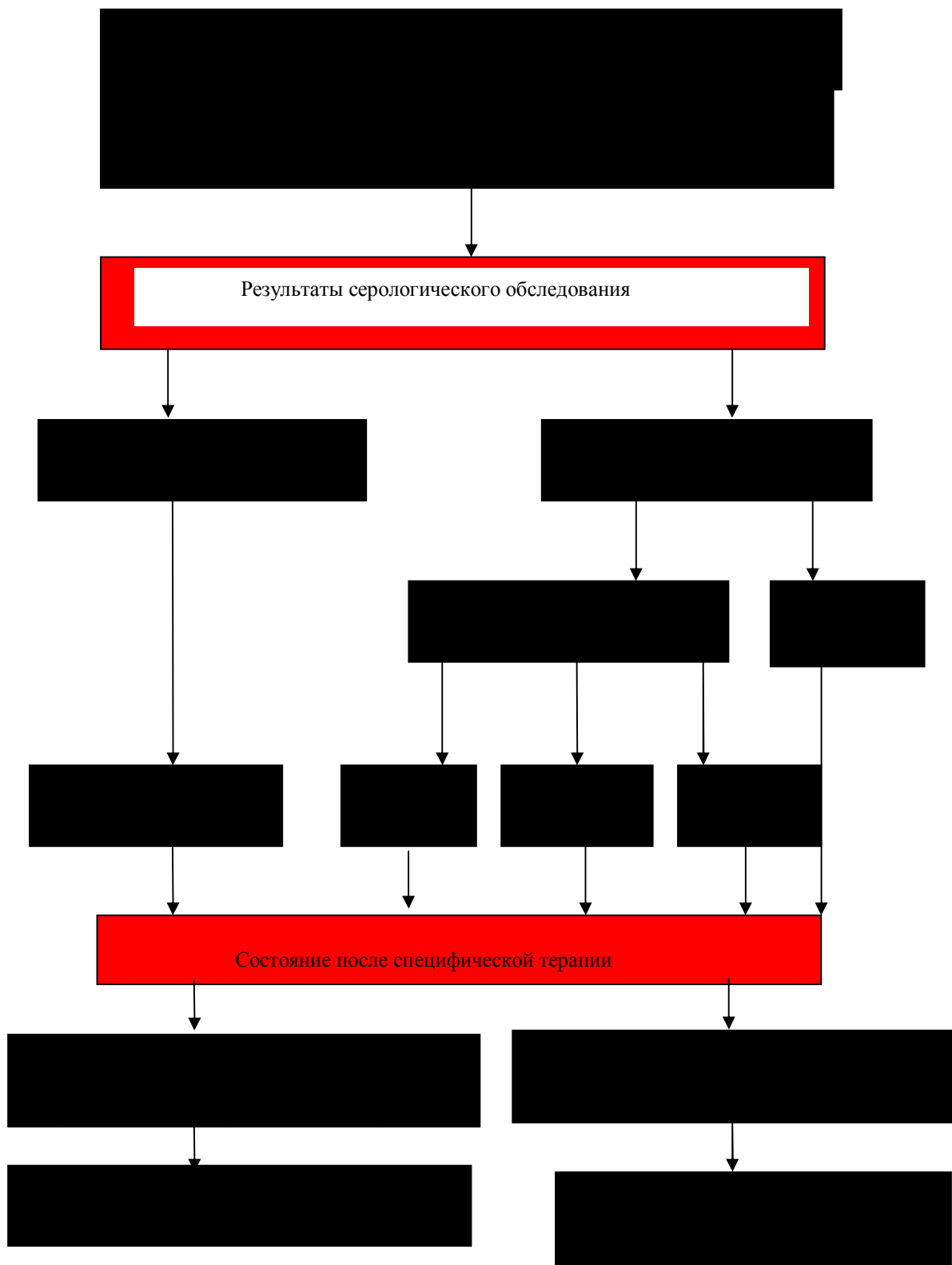


Рис.6 Тактика ведения больных, перенесших сифилис с РМП(+)

При обращении пациентов к дерматовенерологу, время от получения специфической терапии до последнего серологического обследования может быть различным, от нескольких месяцев до 1 года. Поэтому для принятия тактических решений необходимо выяснить какой период времени прошел после окончания терапии и какой титр нетрепонемных антител по РМП определяется у данного пациента. При сроке от момента лечения до серологического обследования в 6 месяцев и снижении антитрепонемных антител в 4 и более раза, требуется продолжение клинико-серологического контроля до 12 месяцев. При обращении пациента через год после специфической терапии и отсутствии снижения нетрепонемных антител в 6-8 раз, требует назначения дополнительного курса антибиотикотерапии

При решении вопроса о серорезистентности после лечения сифилиса ориентироваться следует только на результаты нетрепонемных тестов. Правильно собранный анамнез помогает установить, с чем связана неудача в лечении (несоответствие проведенного лечения стадии заболевания, назначение дурантных препаратов при скрытых формах инфекции, употребление алкоголя и наркотических средств, несоблюдение схем лечения, беременность, наличие интеркуррентных заболеваний).

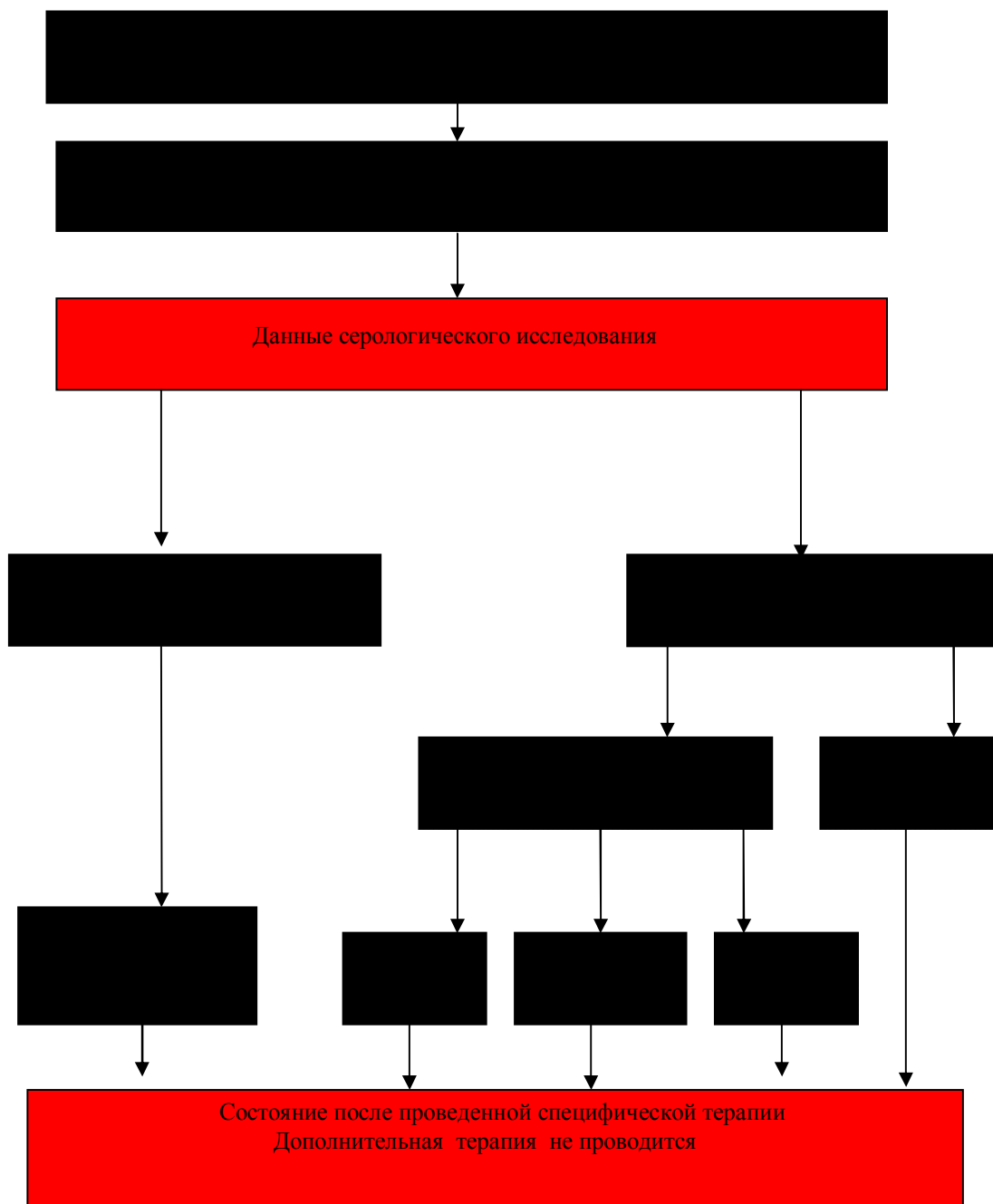


Рис.7 Тактика ведения больных, перенесших сифилис с РМП(-)

Приведенная на рисунке 7 комбинация результатов серологических тестов свидетельствует о состоянии после проведенной специфической терапии..

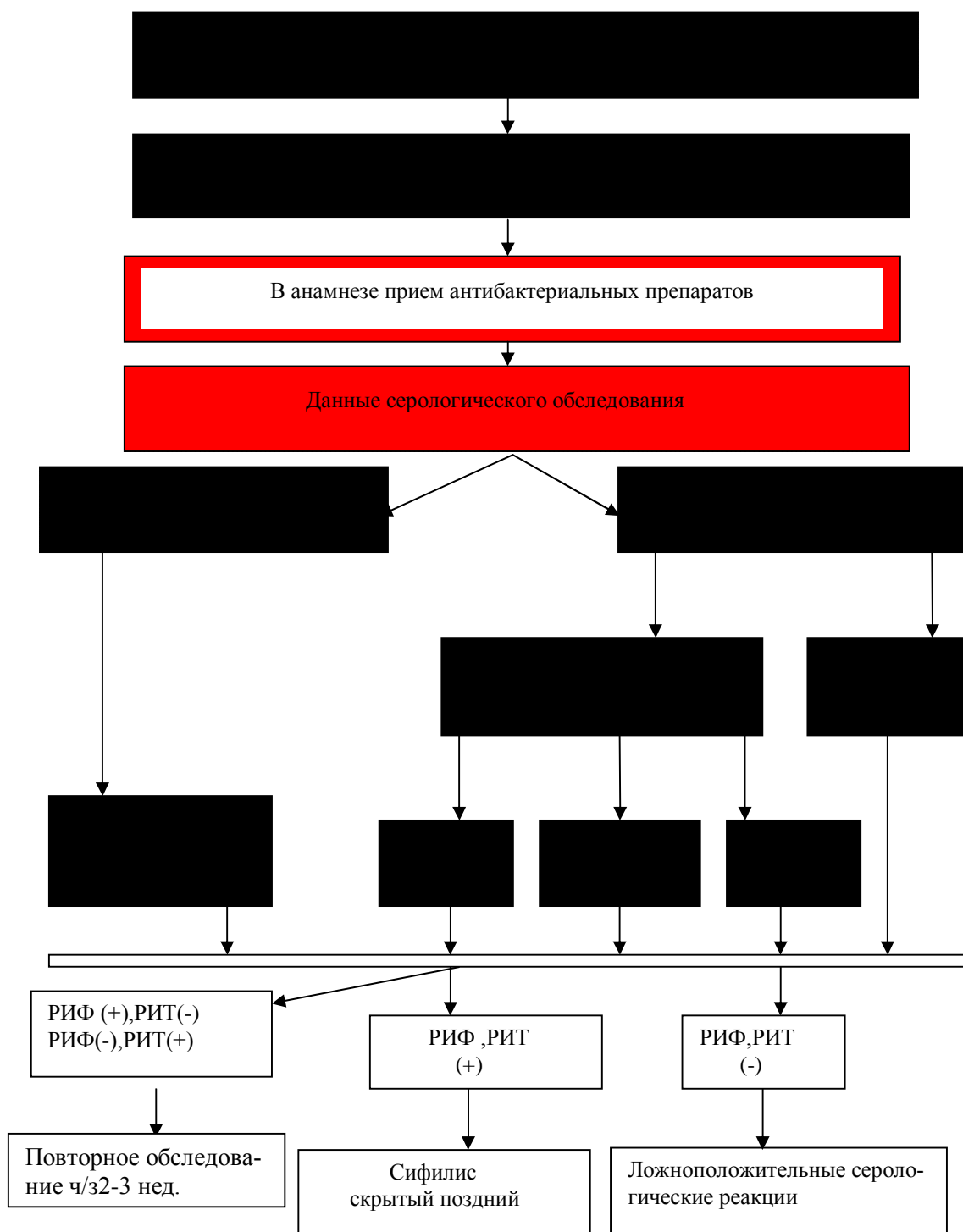


Рис.8. Алгоритм ведения пациентов РМП(-) с различной комбинацией ТТ

Для исключения ложноположительных реакций на сифилис, сыворотку крови исследуют методами РИФ и РИТ. При получении отрицательных резуль-

татов РИФ и РИБТ устанавливается диагноз ложноположительные серологические реакции, при наличии положительных РИФ и РИТ - поздний скрытый сифилис. При разнонаправленных результатах РИФ и РИТ необходимо повторное серологическое обследование через 2-3 недели. (рис.8).

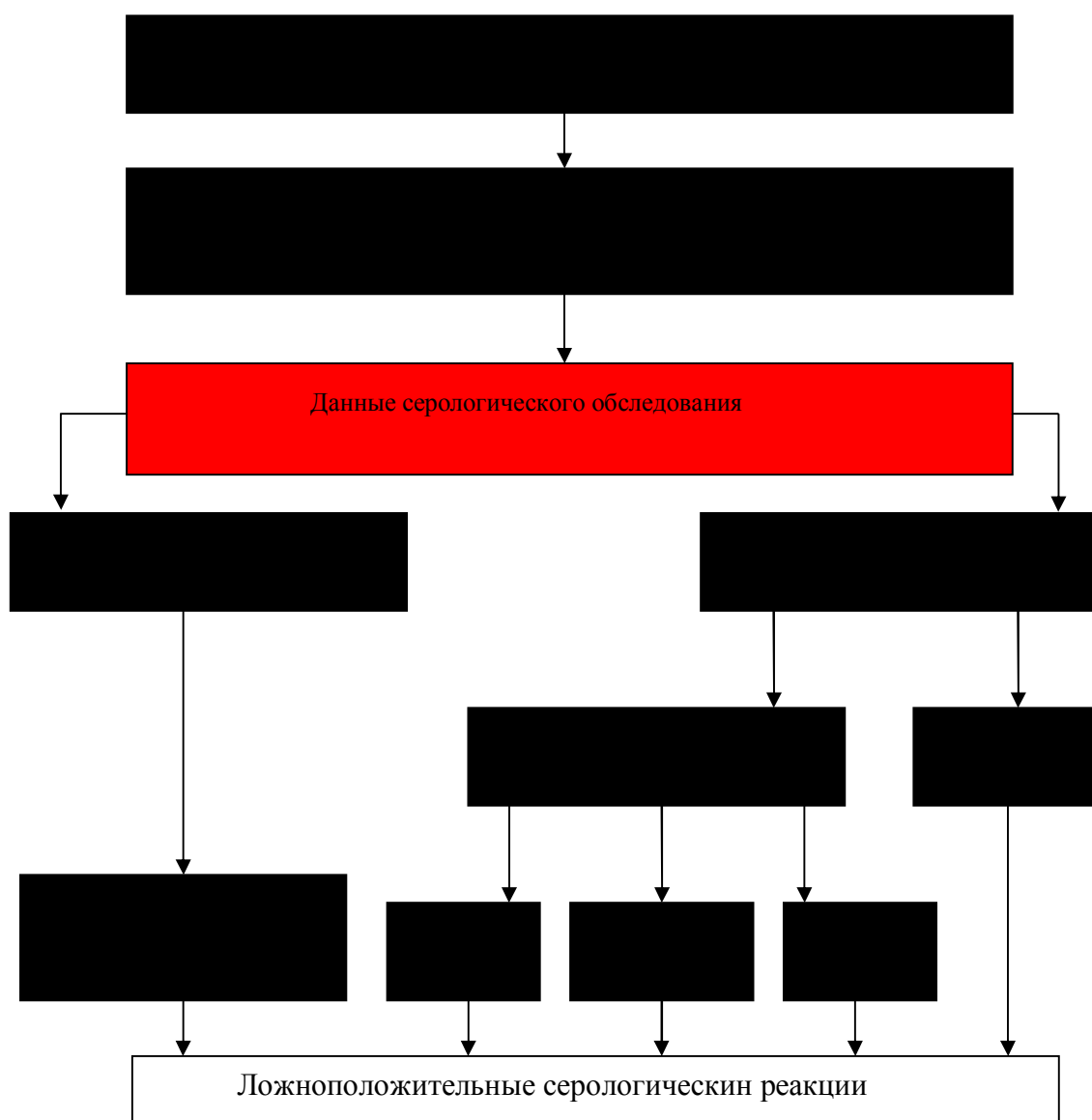


Рис.9 Алгоритм подтверждения ЛПСПР при РМП(+) и ТТ(-)

Интерпретация полученных результатов серологических реакций, приведенных на рисунке 9, соответствует ложноположительным серологическим реакциям на сифилис.

Эффективность применения технологии

Внедрение в практику дерматовенеролога медицинской технологии «Клиническая интерпретация результатов серологических тестов при обследовании на сифилис пациентов без клинических проявлений инфекции» позволило в 1.5-2 раза сократить диагностический период и предотвратить развитие поздних форм инфекции.

Список сокращений, применяемых в технологии:

- 1.РМП- Микрореакция преципитации с кардиолипидным антигеном
- 2 ИФАсат - Иммуноферментный анализ на выявление суммарных противотрепонемных антител
- 3 ИФА IgM- Иммуноферментный анализ на выявление противотрепонемных антител класса IgM
- 4 ИФА Ig G- Иммуноферментный анализ на выявление противотрепонемных антител класса IgG
- 5.РПГА- Реакция пассивной гемагглютинации с определением титра противосифилитических антител
- 6.РИФ-реакция иммунофлюоресценции
- 7.ЛПСР -ложноположительные серологические реакции
8. РИБТ (РИТ) – реакция иммобилизации бледных трепонем

Литература

1. Дмитриев Г.А. Сифилис. Дифференциальный клинико-лабораторный диагноз/Г.А.Дмитриев,Н.В.Фриго.-М.:Мед.книга,2004.-364с.
- 2.Опыт серодиагностики сифилиса методом ИФА в учреждениях дерматовенерологической службы Саратовской области/Г.Ю.Куляш,М.И.Сабаев,В.Я.Айдаров и др.//Клиническая дерматология и венерология.-2005.-№1.-С.42-45.
3. Сифилис. Иммуитет и лабораторная диагностика/В.А.Черешнев, Н.Б.Патрушева ,Я.А.Бейкин и др.-Екатеринбург:УрОРАН,2006.-386 с.
- 4.Фриго Н. В. Современные аспекты дифференциальной диагностики истинной и ложной серопозитивности серологических тестов на сифилис. Вестник дерматологии 2004; 2: 51-54.