

**Микробиологическая
диагностика заболеваний,
передающихся половым путем
(ИППП)**

**Сифилис, гонорея,
урогенитальный хламидиоз**

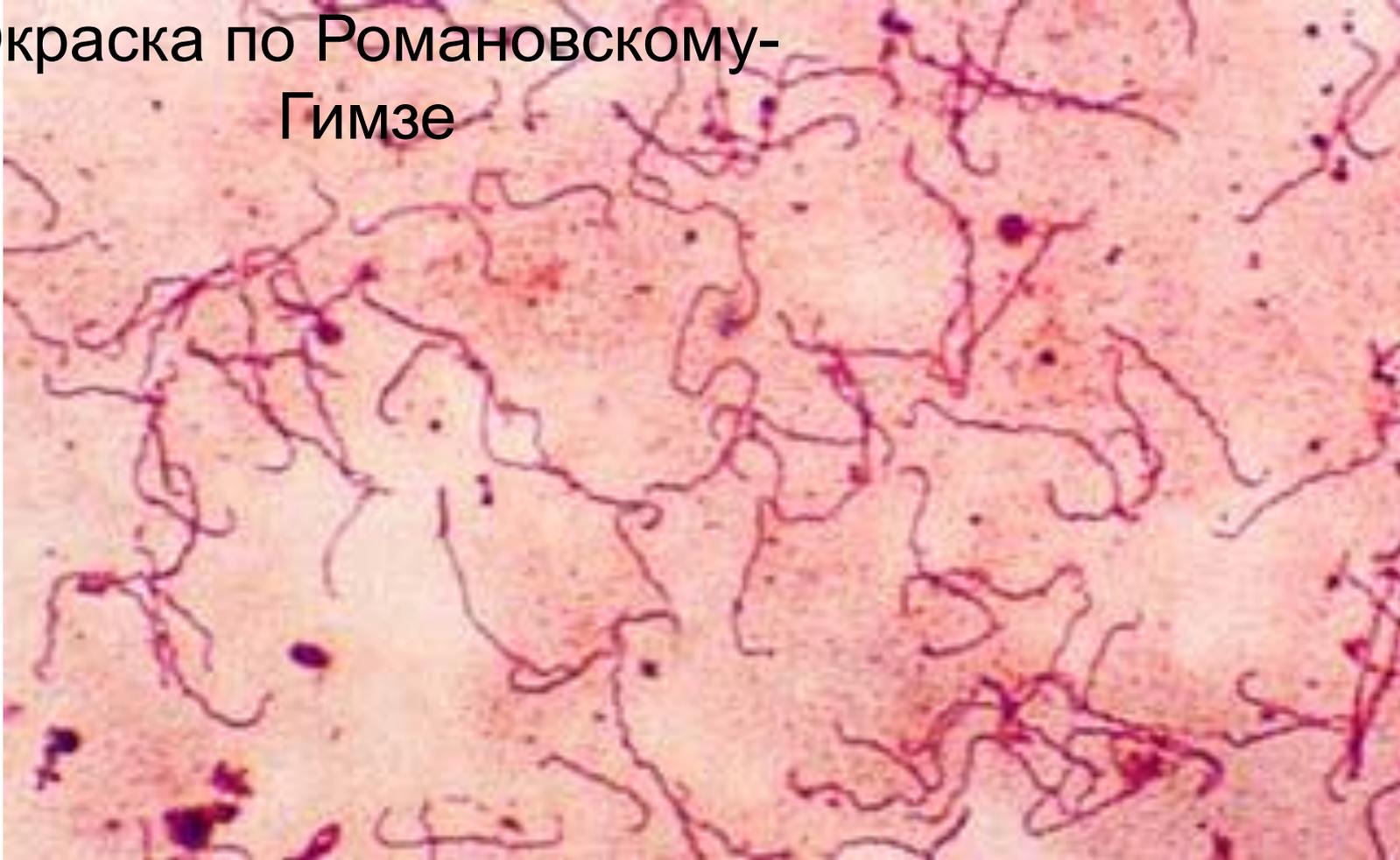
Сифилис

- Сифилис – венерическое заболевание с длительным рецидивирующим течением, в ходе которого происходит смена нескольких периодов с разными клиническими проявлениями.
- При сифилисе могут поражаться практически все системы и органы

Таксономическое положение возбудителя сифилиса

- Семейство Spirochaetaceae
- Род Treponema
- Вид Treponema pallidum
- Подвиды T.pallidum – возбудитель сифилиса
- T.endemicum – возбудитель беджель
- T.carateum – возбудитель пинты
- T.pertenue – возбудитель фрамбезии

Окраска по Романовскому-Гимзе

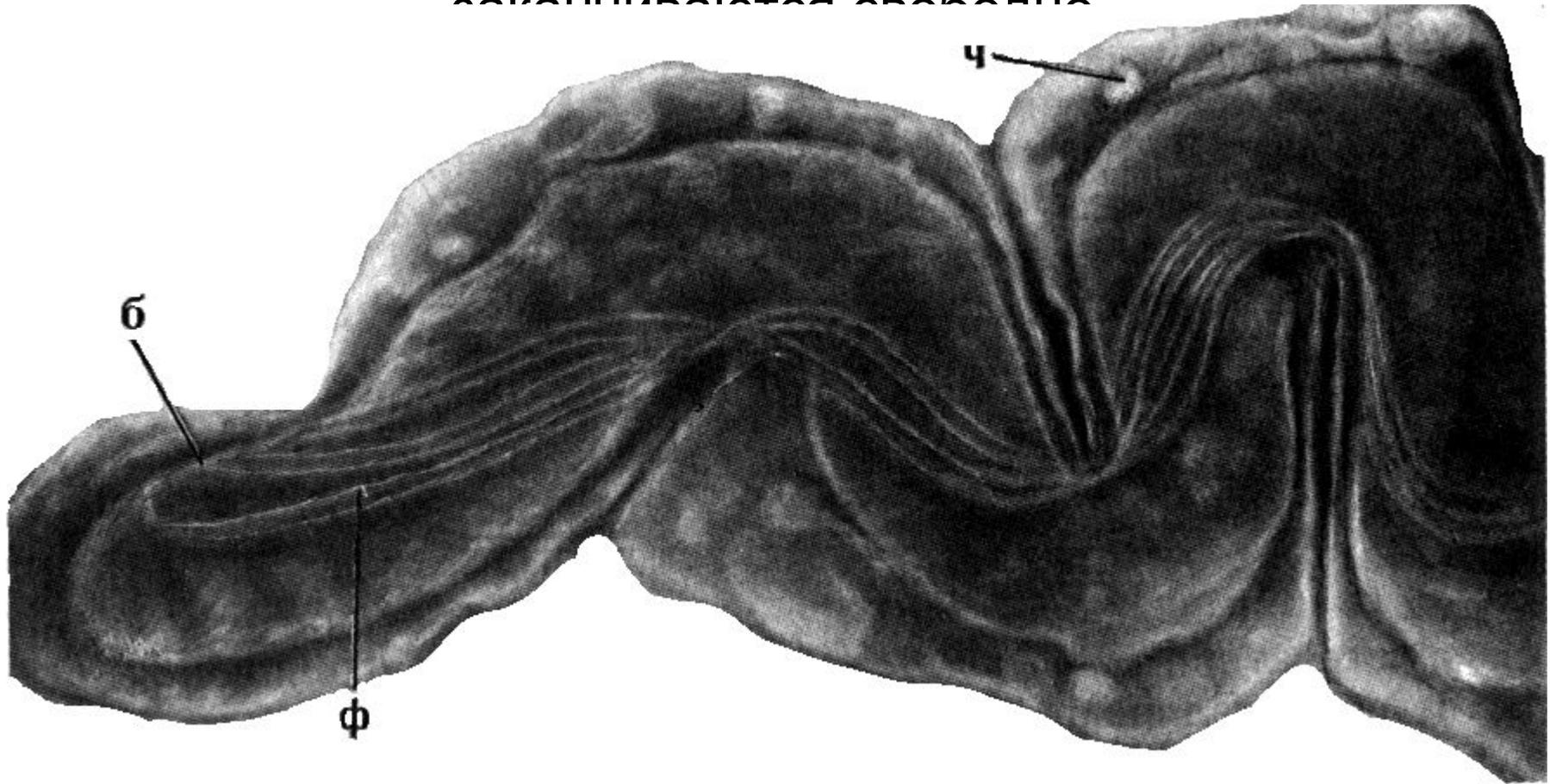


- Трепонемы (лат. сгибающаяся, вращающаяся нить) – тонкие спиралевидные грамотрицательные прокариоты. Среднее количество завитков 8-12. Снаружи трепонема иногда покрыта слизистым чехлом типа псевдокапсулы из кислых полисахаридов, спор не образует. Размножается бинарным делением и распадом на зерна.
- Формы выживания: цистовая (сворачивается в клубочек и образует вокруг себя непроницаемую оболочку), L-форма, зернистые формы

Электронная микроскопия. Увеличение 131000.

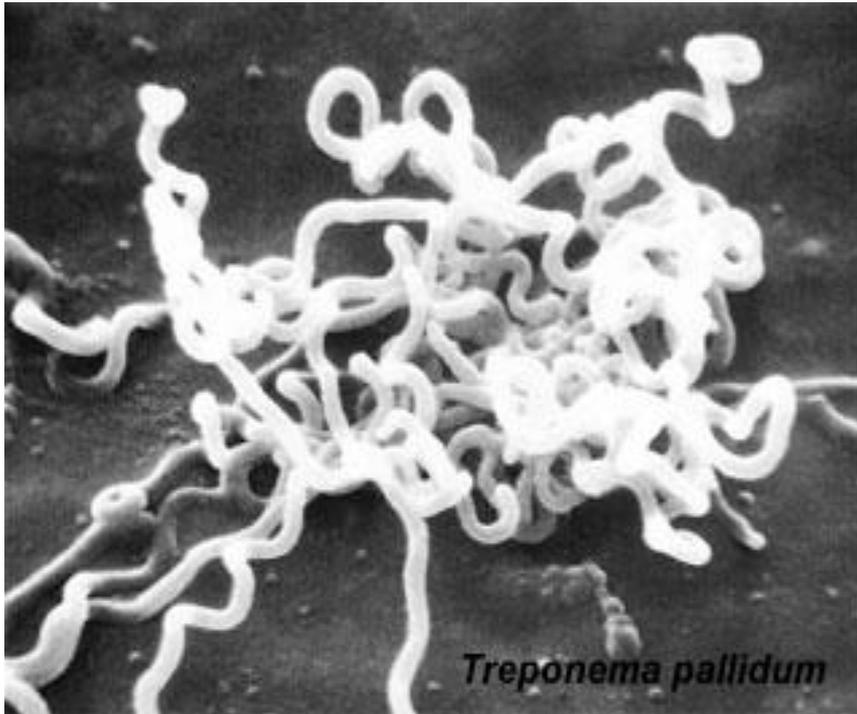
Подвижность обеспечивает внутриклеточный аппарат движения: пучки миофибрилл, обвивающие тело трепонемы. Крепятся к базальным телам у полюсов клетки, в середине

сокращаются свободно



ч - чехол; б - блефаропласт; ф - фибриллы

Трепонемы в электронном микроскопе



Методы микроскопии T.pallidum

- **T.pallidum плохо окрашивается. Чаще всего ее изучают в живых нативных препаратах в темном поле зрения.**
- **Для окрашивания трепонем применяют метод импрегнации серебром по Морозову или Метод Романовского-Гимзе**

Трепонема в темном поле зрения

Syphilis Curriculum

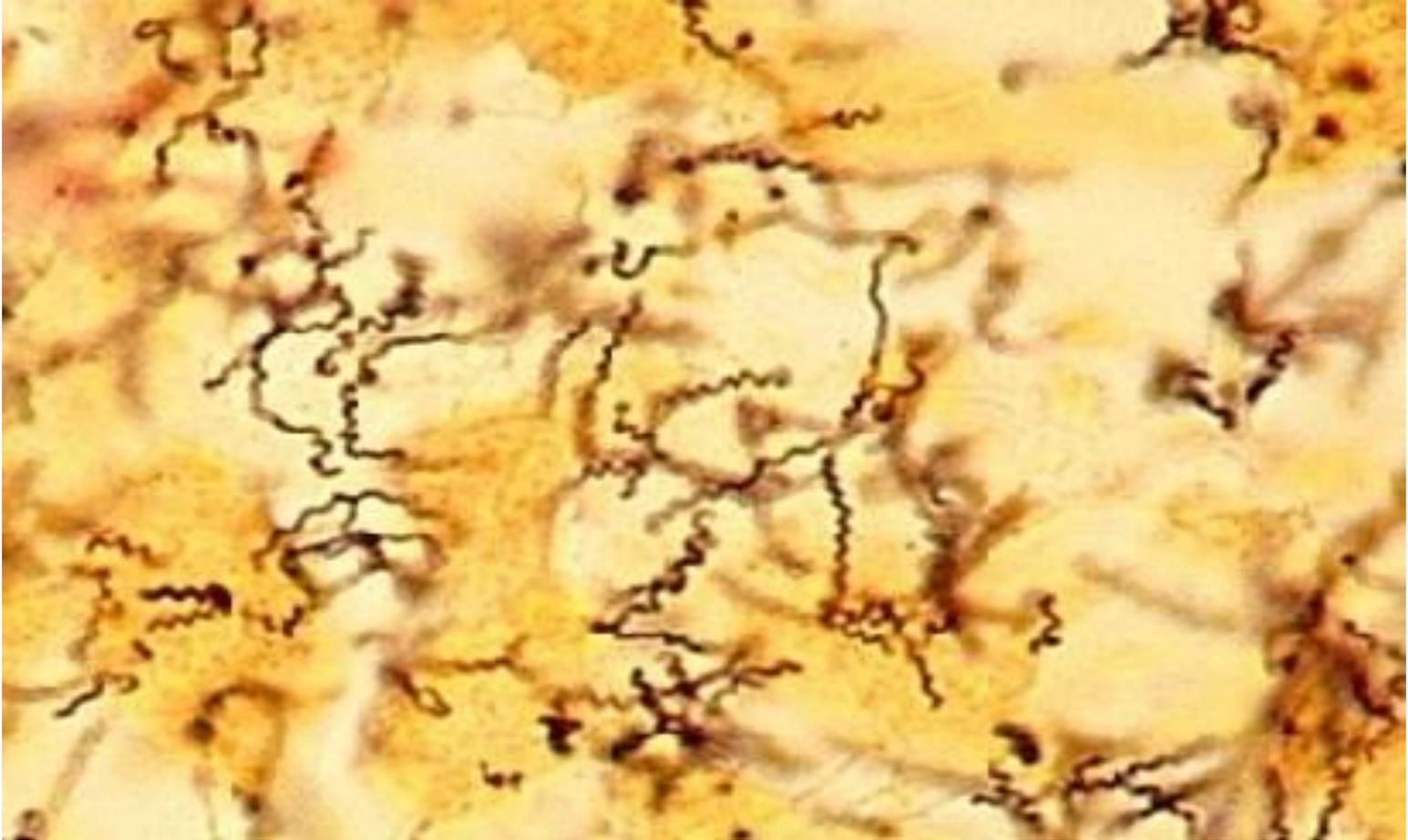
Pathogenesis

Treponema pallidum on darkfield microscopy



Source: CDC/NCHSTP/Division of STD Prevention, STD Clinical Slides

Трепонема, окрашенная методом серебрения по Морозову



Культивирование *T.pallidum*

- Бледная трепонема не растет на искусственных питательных средах, ее культивируют, заражая кроликов-самцов в ткань яичка, где развивается воспалительный процесс (орхит) и накапливается большое количество вирулентных «тканевых» трепонем.



Антигены *T.pallidum*

- **Белковый антиген**, высокоиммуногенный., термостабильный. Антитела к нему появляются в конце инкубационного периода или в течение первой недели после появления твердого шанкра. Длительно сохраняются после излечения.
- **Полисахаридн антиген**, малоиммуногенный , термостабильный. Антитела к нему в диагностике не имеют значения.
- **Липидный «вездесущий» антиген**, иммуногенный, на его долю приходится около 30% сухого вещества клетки спирохеты. Имеет сходство с фосфолипидами митохондриальных мембран тканей человека.
- Антитела к нему называются реагинами - они появляются на 5-6 неделе после заражения и исчезают после успешного лечения.

Факторы патогенности *T.pallidum*

- ***Адгезин*** – поверхностный белок, взаимодействует с фибронектином слизистой.
- ***Инвазивность*** - обеспечивает спиралевидная форма и подвижность
- ***Антифагоцитарные свойства*** - способность связывать на своей поверхности фибронектин
- Поверхностные липопротейны могут участвовать в активации воспаления
- Способность размножаться в межклеточном пространстве и поражать эндотелий сосудов
- Способность к антигенным вариациям – ускользание от иммунного ответа

Источник и пути передачи

Источник – больной человек, антропоноз

Путь заражения	Характеристика
Половой путь	Основной путь инфицирования, при нарушении целостности кожных покровов и слизистых оболочек
Контактно-бытовой	при поцелуях, укусах, кормлении грудью, а также при профессиональных прямых контактах медицинского персонала .
Гемотрансфузионный	При переливании крови больного сифилисом (трансплантации)
Трансплацентарный	Инфицирование происходит через сосуды пораженной плаценты в период беременности и ведет к внутриутробному заражению сифилисом плода.

Периоды заболевания сифилисом

- **Классическое течение сифилиса в виде первичного, вторичного и третичного периодов наблюдается у больных при отсутствии лечения. В настоящее время сифилис излечивается в первичном или вторичном периоде.**

Периоды заболевания сифилисом и методы лабораторной диагностики

- **Первичный период** – твердый шанкр - безболезненный воспалительный процесс в месте входных ворот инфекции в виде небольшой эрозии или язвы на плотном основании. В тканевом отделяемом содержится много трепонем. Через 3-4 недели в сыворотке появляются антитела.



Периоды заболевания при сифилисе – вторичный период

- **Вторичный сифилис продолжается 2-3 года. В результате генерализация инфекции в процесс вовлекаются кровеносные сосуды, лимфатическая система, внутренние органы, костная система, ЦНС. Течение рецидивирующее, приступообразное. На коже и слизистых оболочках появляются различные высыпания, содержащие множество трепонем. Высыпания продолжаются 1,5-2 месяца, затем исчезают и вновь появляются.**
- **Серологические реакции на протяжении всего периода положительные**

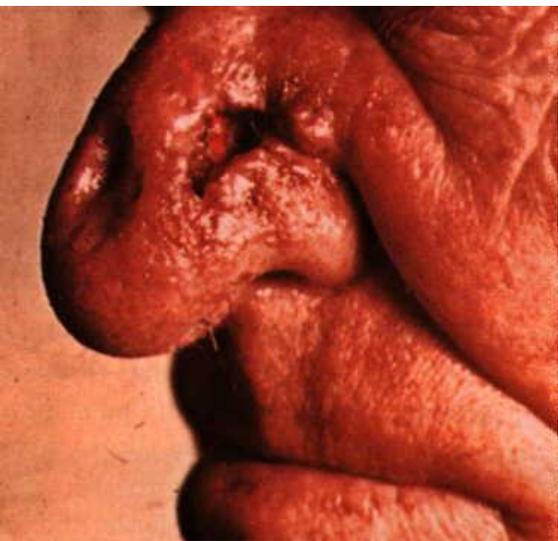
Вторичный сифилис



Третичный период сифилиса

- Третичный период – наиболее тяжелый, имеет рецидивирующее течение, продолжается многие годы. Трепонемы не всегда обнаруживаются. Развивается ГЗТ.
- Для этого периода характерны сифилитические гранулемы – гуммы, они склонны к некрозу и распаду, при их заживлении образуются грубые втянутые рубцы и участки склерозированной ткани. Гуммы могут образовываться в любых органах и тканях, в том числе и в жизненно важных.
- Серологические реакции положительны менее чем у 70% больных.

Третичный сифилис



Осложнения

Ранние осложнения (первичный и вторичный сифилис)

Гангрена и самоампутация полового члена

Ранний нейросифилис: сифилитический менингоневрит с поражением слухового и зрительных нервов (с последующей их атрофией - слепотой и глухотой)

Поражение яичек (сифилитический орхоэпидидимит)

Поражение печени и почек

Косметические осложнения - сыпь, выпадение волос, образование рубцов на месте шанкров

Осложнения во время беременности

Преждевременное прерывание беременности

Смерть плода

Ранний врожденный сифилис и смерть новорожденного

Поздний врожденный сифилис ведущий к инвалидности и ранней смерти

Поздние осложнения (поздний скрытый сифилис, третичный сифилис)

Осложнения, которые могут привести к смерти больного:

Сифилитический аортит

Сифилитическая аневризма аорты

Сифилитический пневмосклероз и бронхоэктазия

Осложнения, приводящие к инвалидности больного:

Перфорация твердого неба (невозможность приема пищи)

Седловидный нос (затруднение дыхания)

Гуммозные периоститы, оститы и остеомиелиты (ограничение передвижения)

Осложнения, приводящие к стойким психоневрологическим расстройствам:

(Поздний нейросифилис)

Поздний менингovasкулярный сифилис с поражением зрительного и слухового нервов

Сухотка спинного мозга

Прогрессивный паралич

Особенности иммунитета

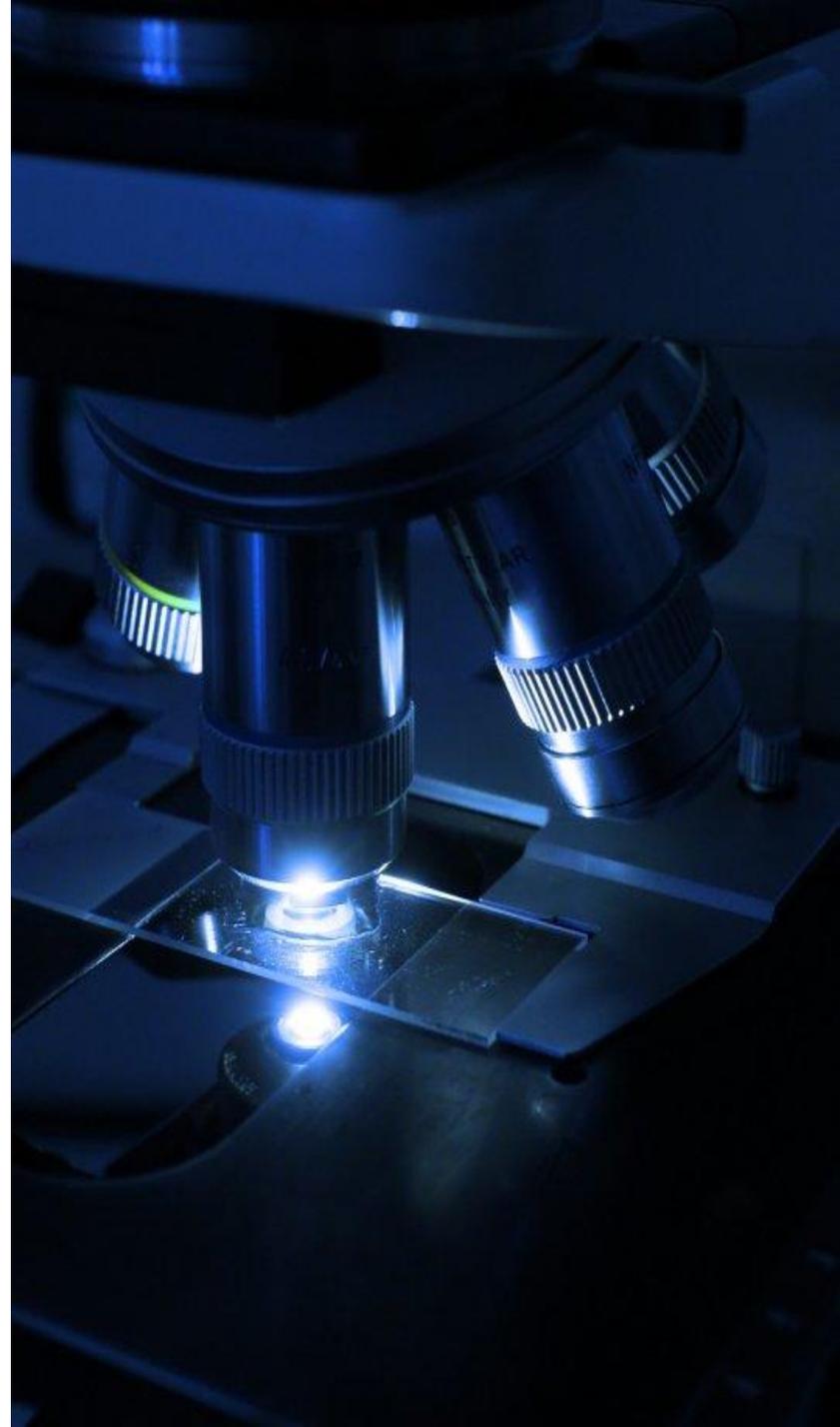
- Иммунитет нестерильный
- В его формировании участвуют гуморальные и клеточные факторы, развивается ГЗТ
- Незавершенный фагоцитоз
- Образуются специфические АТ – реагены (антилипидные) и специфические (антитрепонемные)
- После истечения заболевания иммунитет не сохраняется

Лабораторное исследование сифилиса

Методы диагностики:

- Микроскопический
- серологический

- **Микроскопическое исследование проводят в первичном и вторичном периоде сифилиса.**
- **Исследуемый материал: отделяемое твердого шанкра, язв, эрозий, содержимое разных высыпаний на коже или слизистых оболочках и др.**
- **Применяют темнопольную микроскопию, реже окрашивают препараты**



Серологическая диагностика сифилиса

- Серологические реакции применяют для выявления Ат. Они подразделяются на:
- - Неспецифические – выявляющие противOLIпидные Ат (реагины), в них используют неспецифический кардиолипиновый антиген.
- - Специфические – в них используют специфические трепонемные антигены.

Серологическая диагностика сифилиса (продолжение)

Серологическая диагностика сифилиса проводится в нашей стране согласно приказу № 87 МЗ РФ от 26.03.2001 г с применением следующих тестов:

- Отборочные (скрининговые) тесты;
- Подтверждающие тесты.

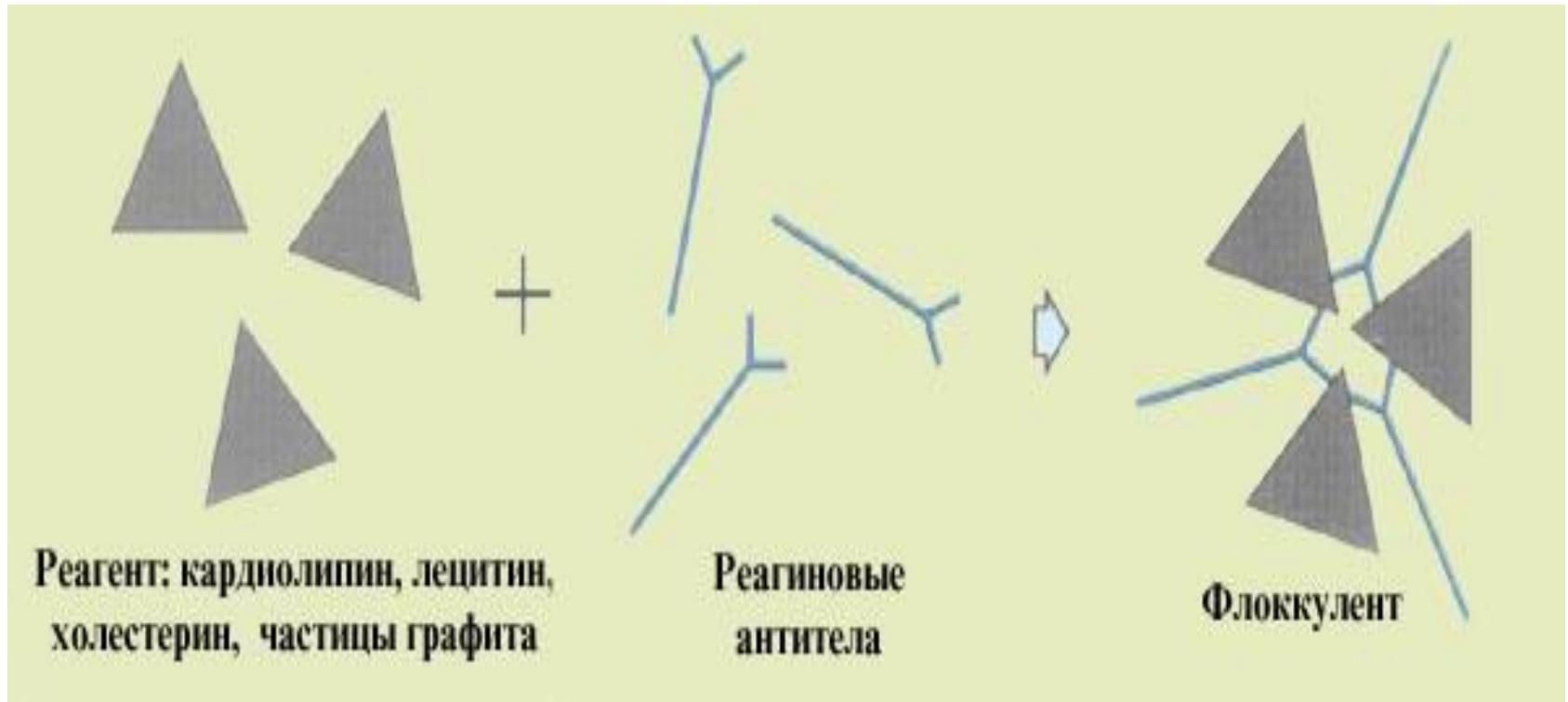
Отборочные серологические тесты

- Антиген - стандартный кардиолипин-лецитин -холестероловый антиген и ультразвуковой дезинтеграционный культуральный трепонем (трепонемный антиген).
- Нетрепонемные тесты, в связи с дешевизной, доступностью простотой и быстрым сроком исполнения, применяются для скрининга сифилиса как отборочные реакции.
- По изменению количественных нетрепонемных тестов судят о степени эффективности лечения сифилиса и устанавливают его излеченность. Поэтому нетрепонемные тесты применяются в комбинации с трепонемными тестами для установки диагноза сифилиса и проводятся до начала лечения, в процессе лечения и после окончания лечения в определенные временные интервалы.
- Снижение титров нетрепонемных тестов в 4 и более раз в течении года после лечения подтверждает эффективность проведенной терапии сифилиса и является критерием его излеченности

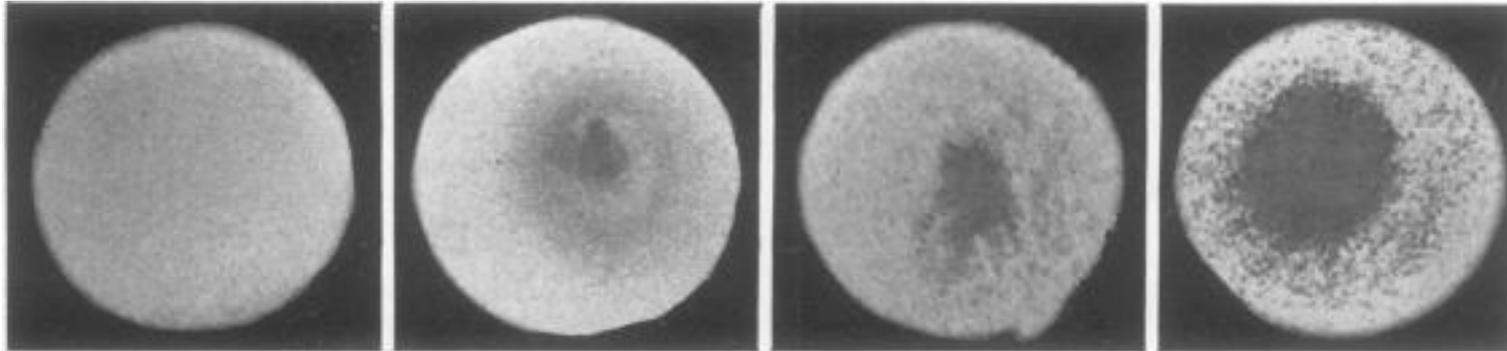
1. Реакция микропреципитация (РМП) или ее модификации (РПР и др.)

2. РПНГ и ИФА

Механизм реакции микропреципитации (РМП) с кардиолипидным антигеном



РПР - тест



1. Отрицательный результат
2. Положительный?
- 3, 4. Положительный

Ложноположительные результаты в отборочных тестах : беременность, прием накануне жирной пищи или алкоголя, острые воспалительные процессы, инфаркт, переломы, туберкулез, цирроз, аутоиммунные заболевания и др.

Подтверждающие серологические тесты

- В качестве антигенов применяются трепонемные антигены - либо интактные трепонемы либо очищенные и ультразвуоченные трепонемы либо рекомбинантные антигены
- Трепонемные тесты применяются только для диагностики сифилиса и не используются для проведения контроля излеченности.
- **1. РПГА (РНГА) – реакция пассивной (непрямой) гемагглютинации**
- **2. ИФА – иммуноферментный анализ**
- **3. Иммуноблот – при сомнительном результате РПГА или ИФА**

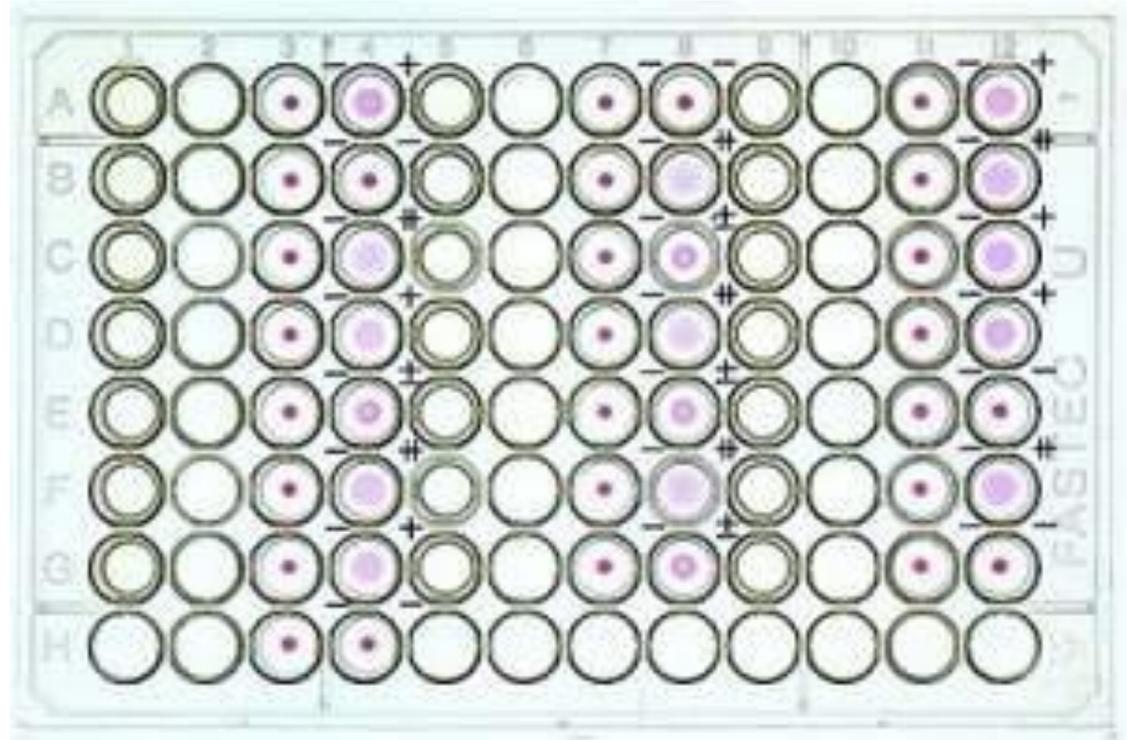
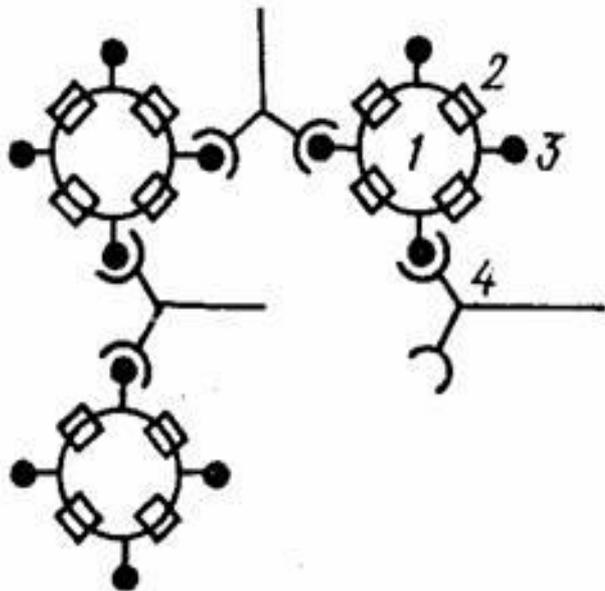
Подтверждающие серологические тесты (продолжение)

- Эти реакций ставят в специализированных институтах и в качестве антигена используют живые тканевые T.pallidum штамма Никольс .
- 4. МИФ – метод иммунофлюоресценции непрямой
- 5. РИТ – реакция иммобилизация трепонем

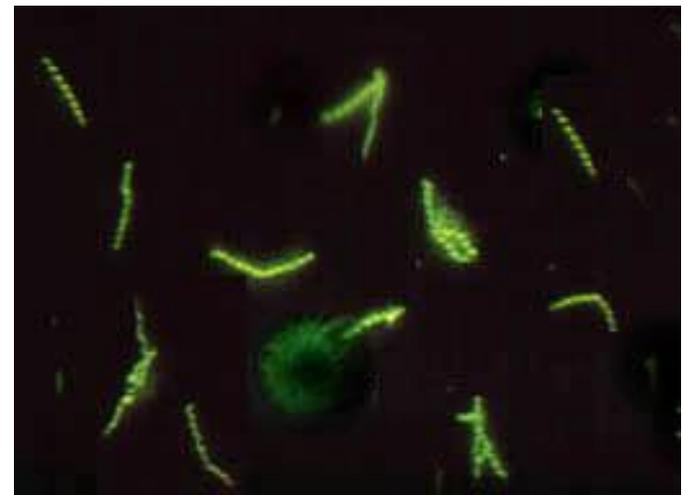
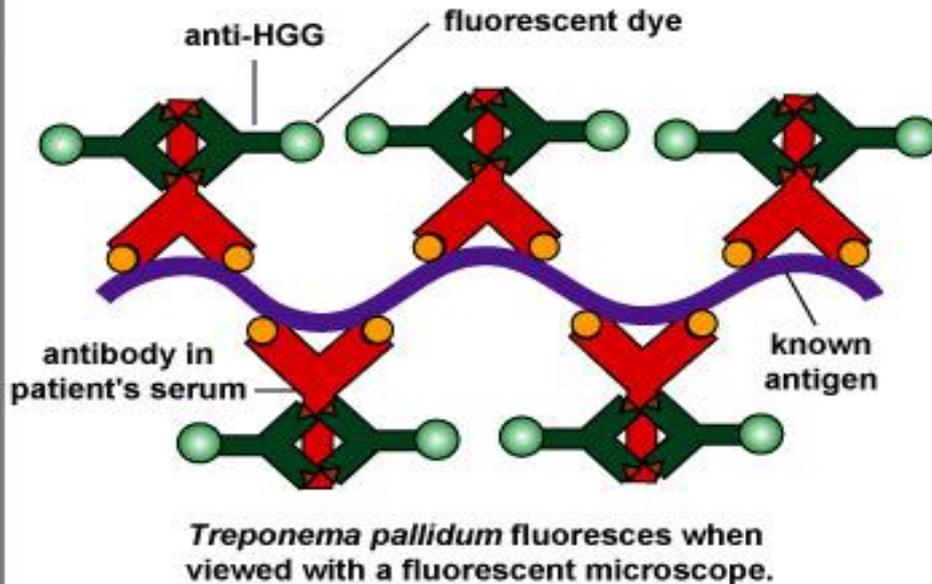
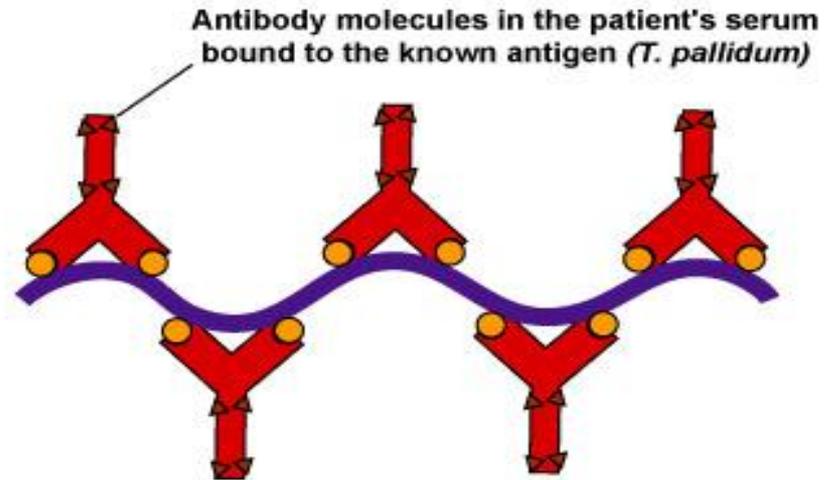
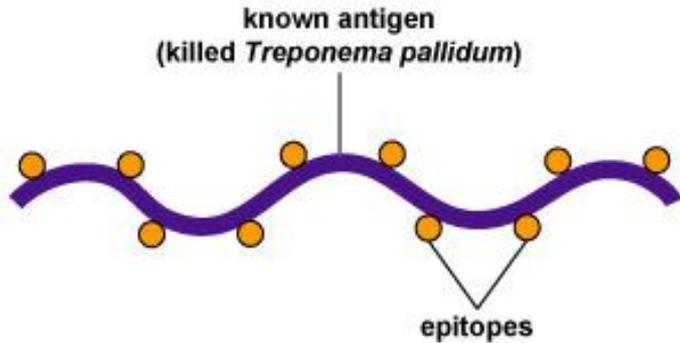
Сроки появления положительных серологических реакций при сифилисе

														Положительная РИБТ	
Противотрепонемные IgG положит. РИФ,ИФА,РПГА															
Противотрепонемные IgM положит. Ig M - ИФА/IgM -иммуноблотинг															
Реагины (IgM + IgG) положит. МР (RPR/VDRL)															
						лимфаденит					полиаденит				
инкубац. период				шанкр						первичная розеола					
нед	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

Реакция непрямой гемагглютинации со специфическим трепонемным антигенов



Непрямой иммунофлуоресцентный метод



Сводная таблица методов диагностики

Обнаружение T.pallidum в материале из очагов поражения, лимфатических узлов, амниотической жидкости, ликвора	<p>Темнопольная микроскопия</p> <p>Прямая реакция иммунофлюоресценции (РИФ-Тр)</p> <p>Полимеразная цепная реакция ПЦР</p>	<p>Обнаружение типичных форм трепонемы</p> <p>Наличие флюоресцирующих трепонем</p> <p>Обнаружение специфической ДНК T.pallidum</p>
--	---	--

[Нетрепонемные серологические тесты](#) - обнаружение в сыворотке крови антител против фосфолипидов тканей, разрушенных сифилитической инфекцией и липидов мембраны T.pallidum

Макроскопический тест [Тест быстрых плазменных реакинов \(Rapid Plasma Reagins, RPR\)](#)

Микроскопический тест VDRL (Venereal Disease Research laboratory)

[Количественный тест VDRL](#)

Реакция связывания комплимента ([Реакция Вассермана](#))

Положительный (позитивный) результат

[Трепонемные серологические тесты](#) - обнаружение в сыворотки крови антител против антигенов бледной трепонемы

[Реакция иммунофлюоресценции](#) РИФ (FTA)

[Реакция пассивной гемоагглютинации](#) РПГА (ТРНА)

[Иммуноферментный анализ](#) ИФА (ELISA)

[Иммуноблотинг](#)

Положительный (позитивный) результат