

**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

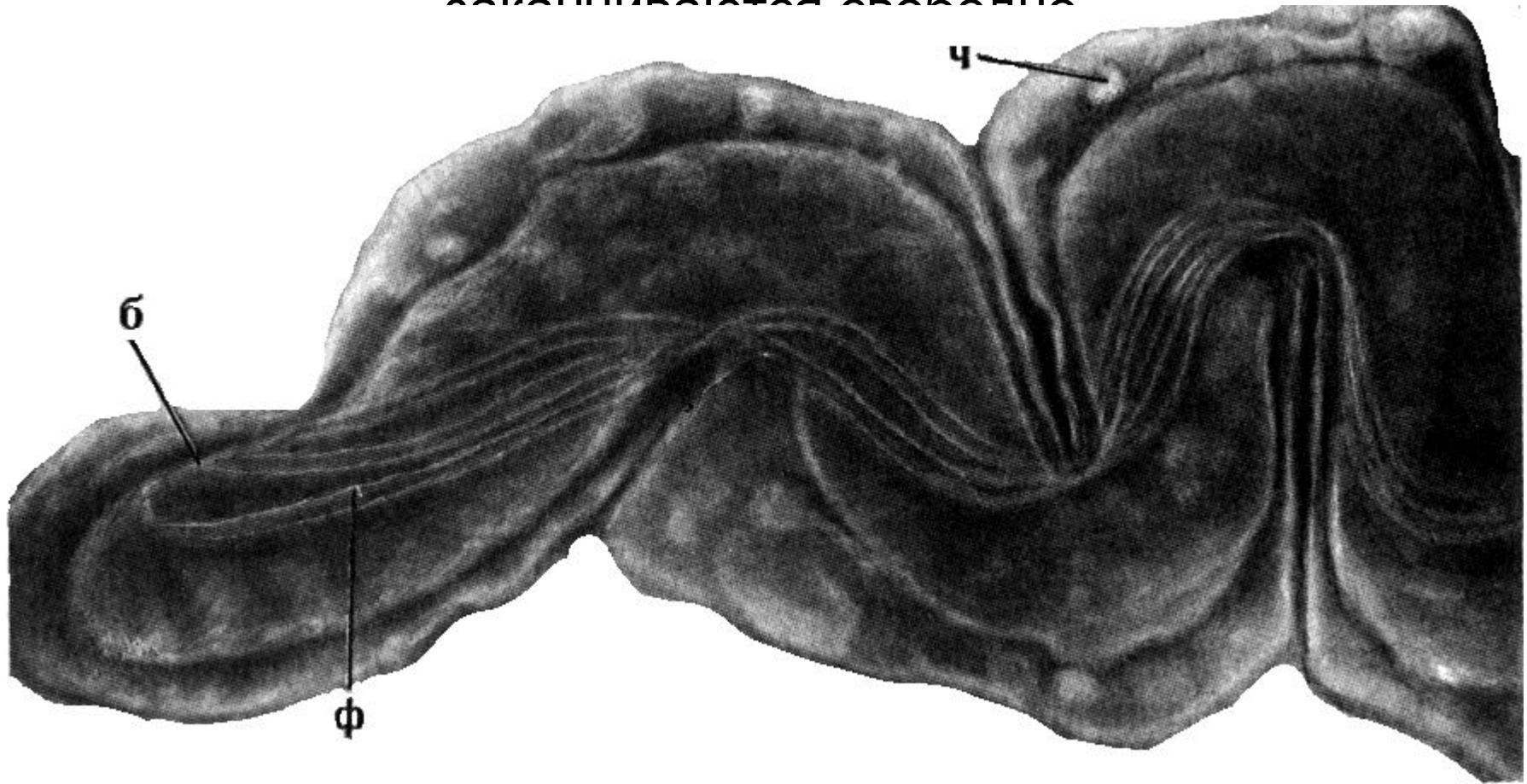


- Трепонемы (лат. сгибающаяся, вращающаяся нить) – тонкие спиралевидные грамотрицательные прокариоты. Среднее количество завитков 8-12. Снаружи трепонема иногда покрыта слизистым чехлом типа псевдокапсулы из кислых полисахаридов, спор не образует. Размножается бинарным делением и распадом на зерна.
-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

Электронная микроскопия. Увеличение 131000.

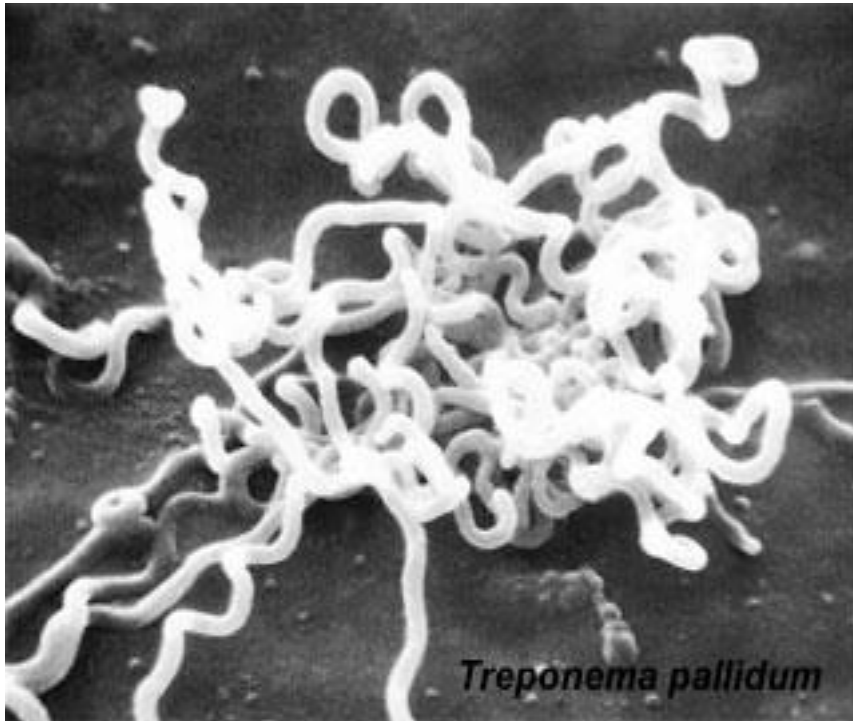
Подвижность обеспечивает внутриклеточный аппарат движения: пучки миофибрилл, обвивающие тело трепонемы. Крепятся к базальным телам у полюсов клетки, в середине

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

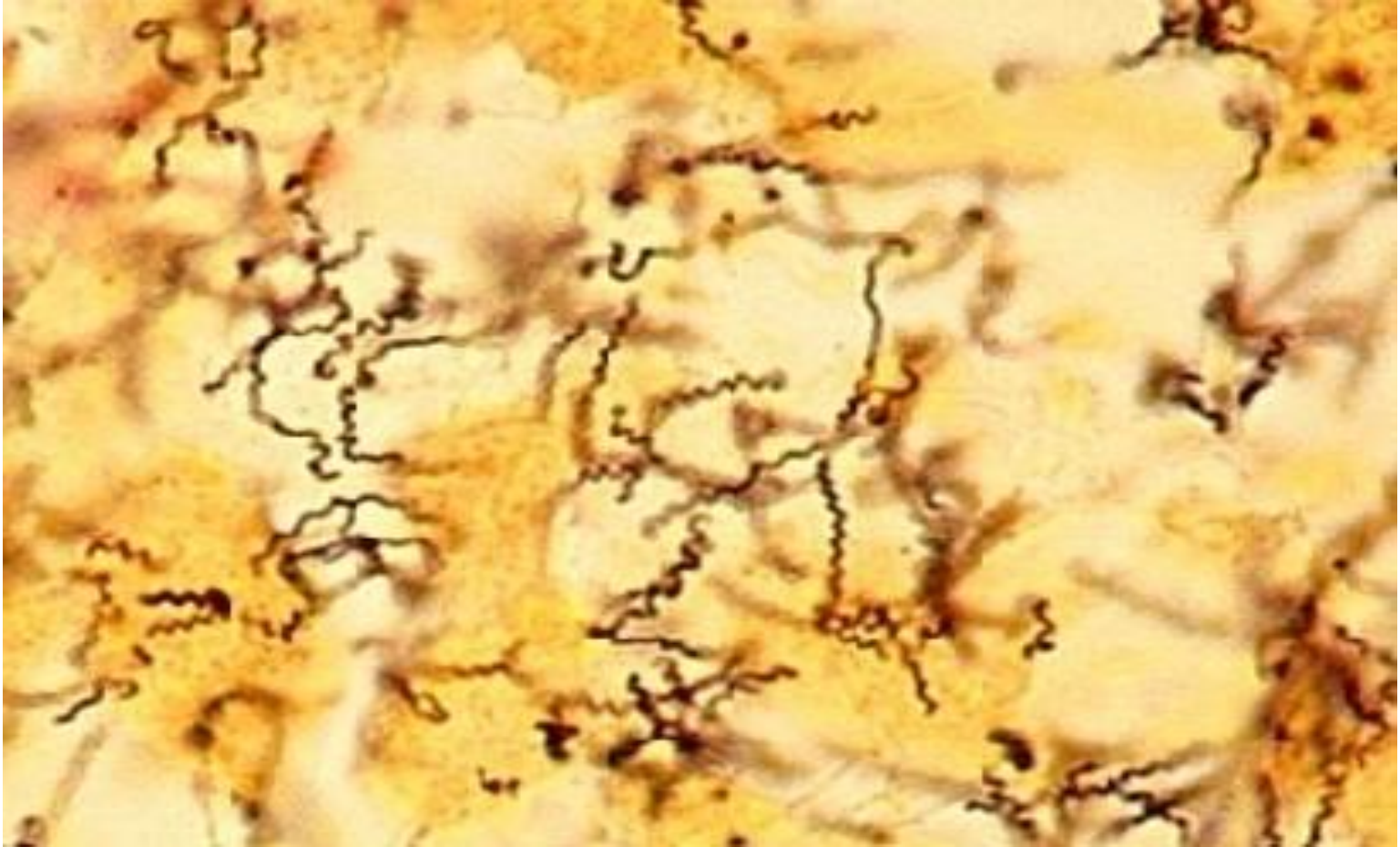
Pathogenesis

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.

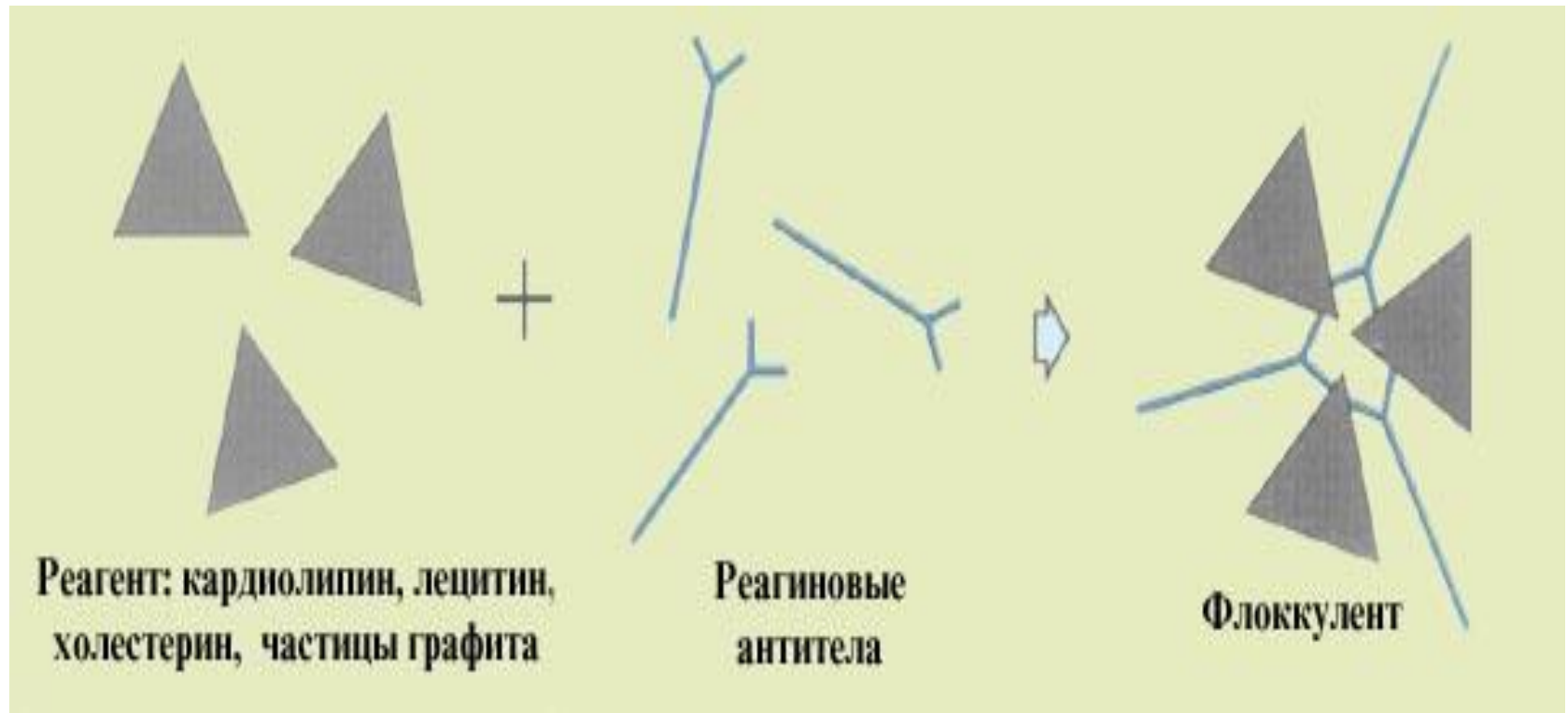
Отборочные серологические тесты

- 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

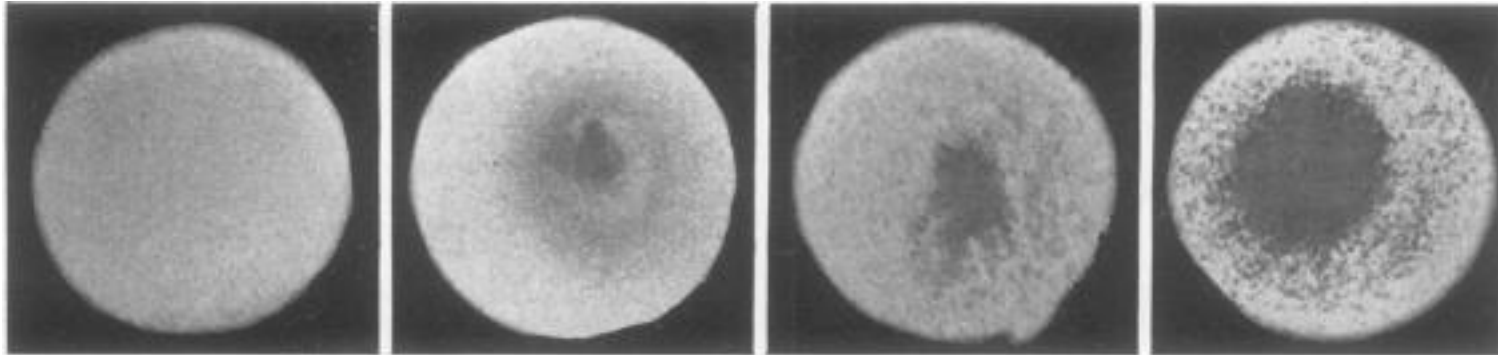
1. Реакция микропреципитация (РМП) или ее модификации (РПР и др.)

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**

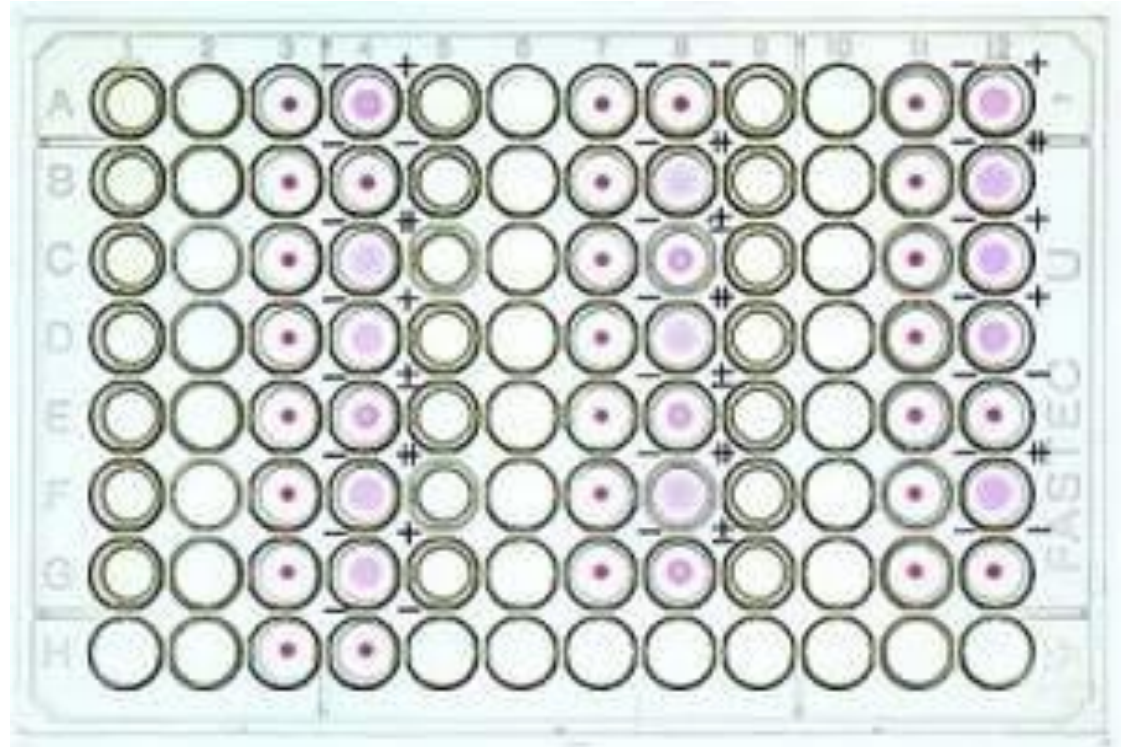
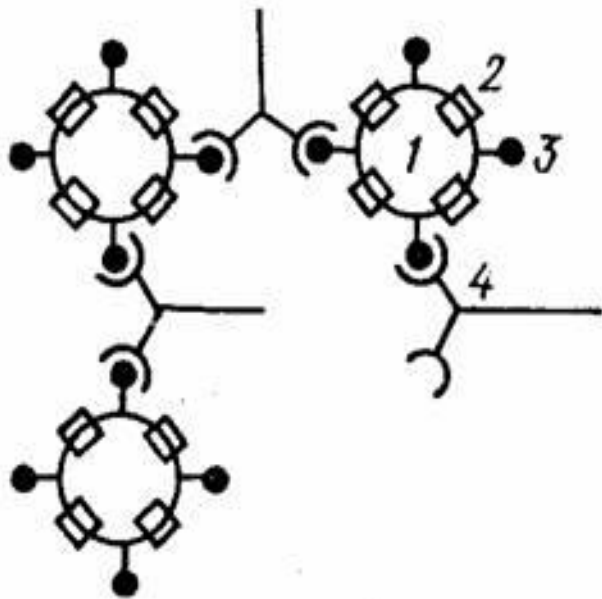
Подтверждающие серологические тесты (продолжение)

- 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

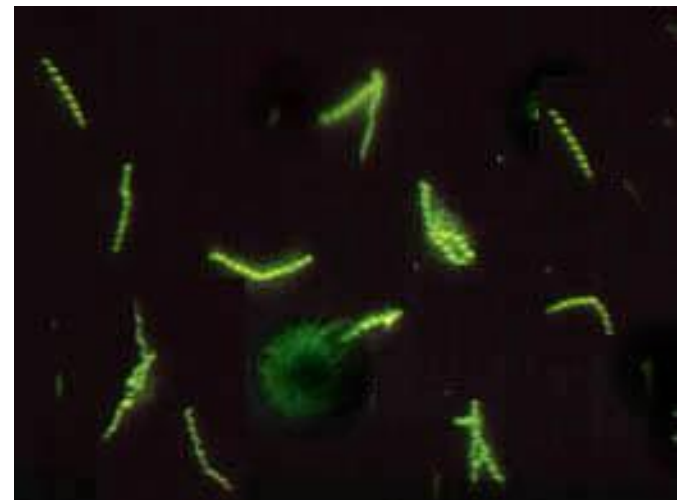
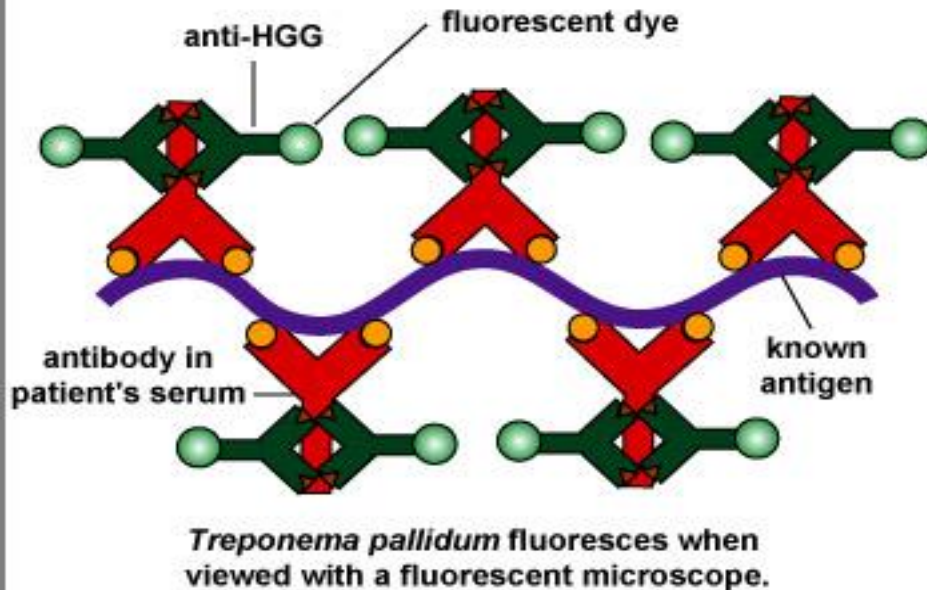
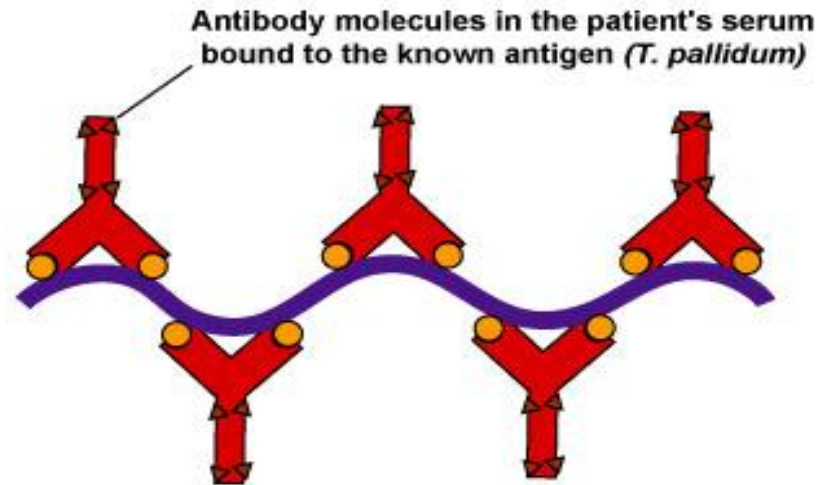
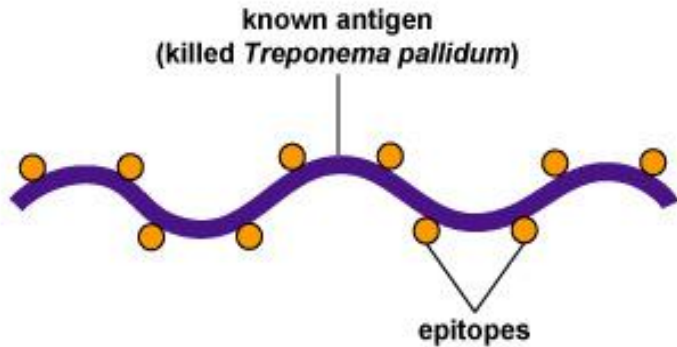
Сроки появления положительных серологических реакций при сифилисе

														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><u>Темнопольная микроскопия</u></p> <p><u>Прямая реакция иммунофлюоресценции</u> (РИФ-Тр)</p> <p><u>Полимеразная цепная реакция</u> 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