ОГЛАВЛЕНИЕ

3	ПРЕДИСЛОВИЕ
4	ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ С.Н. Иголкина, В.Ф. Пузырёв, Л.Г. Зинина, Н.М. Денисова, А.Н. Бурков,А.П. Обрядина, Т.И. Уланова
8	Иммуноферментные тест-системы "ДС-ИФА-HBeAg" и "ДС-ИФА-анти-HBe" для специфической диагностики и прогнозирования исходов острого и хронического гепатита В
15	РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)
20	Сифилис
25	ВИЧ-инфекция
30	Герпесвирусные инфекции
45	Токсоплазмоз
50	ИНФОРМАЦИЯ О ПАТЕНТАХ
52	План семинаров ООО "НПО "Диагностические системы" в I квартале 2006 г.

Редакционная коллегия:
А.П.Обрядина, Е.О.Копнина,
Н.В.Корниенко, М.В.Кувшинов,
Р.А.Плохов, Е.Е. Шальнова
Художественный редактор: Ю.А.Филиппова,
Компьютерная верстка: Т.Ю.Коваль
Подписано в печать 30.01.2006.
Тираж 999 экземпляров. Распространяется бесплатно
Адрес редакции, издательства, типографии:
603022, г.Н.Новгород, ул.Барминская, 8а
тел/факс (8312)343 454, 343 318
E-mail: info@npods.nnov.ru
www.npods.ru

"Get your facts first, and them you can distort them as much as you please"

M. Twain

Уважаемые читатели!

Во втором номере журнала "Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний" мы продолжаем публиковать информационные материалы и рефераты статей (в основном из зарубежных изданий) по существующим в настоящее время в медицине актуальным проблемам лабораторной диагностики ряда инфекций.

Настоящий номер содержит реферативную информацию о таких важных инфекционных заболеваниях, как сифилис, ВИЧ-инфекция, инфекции вызываемые вирусом простого герпеса (публикации в основном посвящены проблемам генитального герпеса), токсоплазмоз. Оригинальная статья подготовлена сотрудниками ООО "НПО "Диагностические системы" (Н.Новгород) и посвящена диагностике вирусного гепатита В. Раздел статистики включает материалы по заболеваемости сифилисом в различных регионах РФ.

Кроме статей по лабораторной диагностике, в журнале опубликованы рефераты, касающиеся клиники, терапии, ведения больных. Акцент делается также на распространенность инфекций на территории Российской Федерации и других стран. Содержится информация о предстоящих научно-практических мероприятиях с участием нашей компании.

Мы надеемся, что данное информационно-реферативное издание заинтересует не только врачей-лаборантов, но и инфекционистов, эпидемиологов, педиатров, дерматовенерологов, акушеров-гинекологов. Очевидно, что постановка корректного диагноза возможна лишь при тесном сотрудничестве и полном взаимопонимании клиницистов и лаборантов. Одной из задач нашего журнала является достижение такого взаимопонимания.

Уважаемые читатели! Иногда в приведенном реферате статьи дается указание на наличие в ней материала, не освещенного в данном реферате. Если Вас заинтересовал полный текст какой-либо конкретной статьи, пожалуйста, свяжитесь с нами по телефону или электронной почте! В сообщении достаточно указать номер статьи в нашем журнале и/или Ваши пожелания и координаты (например, статья 12/73 — хотелось бы подробного перевода главы о периодической терапии рецидивирующего ГГ). В этом случае электронной или обычной почтой Вам будет выслан оригинал статьи с полным переводом.

Редакционная коллегия с благодарностью примет Ваши пожелания и замечания по содержанию и оформлению нашего журнала, а также опубликует оригинальные статьи и качественные переводы, соответствующие профилю издания.

Иммуноферментные тест-системы "ДС-ИФА-HBeAg" и "ДС-ИФА-анти-HBe" для специфической диагностики и прогнозирования исходов острого и хронического гепатита В

С.Н. Иголкина,
В.Ф. Пузырь,
Л.Г. Зинина,
Н.М. Денисова,
А.Н. Бурков,
А.П. Обрядина,
Т.И. Уланова

Гепатит В — вирусное инфекционное заболевание, характеризующееся тяжелым воспалительным поражением печени [7].

Около 1% летальных исходов наблюдается в острый период болезни, в 4-10% случаев происходит трансформация в хронический процесс с возможным формированием в последующем цирроза печени и первичной гепатокарциномы [8].

Несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости острым гепатитом В, продолжает формироваться опасная в эпидемиологическом плане группа больных, которым впервые поставлен диагноз "хронический вирусный гепатит", а также группа носителей возбудителя заболевания. Сохраняется неблагополучный прогноз, связанный с высокой заболеваемостью гепатитом В среди населения репродуктивного возраста, а также среди подростков [2].

Поэтому сейчас особенно актуальны вопросы лечения, профилактики и диагностики гепатита В. В настоящее время для детекции маркеров этой инфекции широко применяются методы иммуноферментного анализа. К числу важнейших серологических маркеров вирусного гепатита В (ВГВ) относятся е-антиген (HBeAg) и антитела к е-антигену (анти-HBe). HBeAg ассоциируется с высокой инфицированностью крови, свидетельствуя об активной репликации вируса гепатита В (HBV). Установлено, что высокие титры HBeAg соответствуют высокой ДНК-полимеразной активности и всегда сочетаются с обнаружением полных частиц Дейна [4]. При попадании сыворотки, содержащей HBeAg, в кровь здорового человека опасность заражения значительно выше, чем после наступления сероконверсии.

При остром гепатите В HBeAg обнаруживается в крови на ранних этапах инфекционного процесса — уже при первых клинических проявлениях болезни, отставая на неделю от появления HBsAg. Острый гепатит В (ОГВ) циклического течения характеризуется кратковременной циркуляцией HBeAg. Вскоре, на 2-3 неделе желтушного периода появляются анти-HBe, что позволяет прогнозировать благоприятный исход заболевания [3].

Анти-HBe циркулируют в крови на протяжении 2-5 лет, реже несколько месяцев. Наступление сероконверсии HBeAg-анти-HBe знаменует резкое снижение активности инфекционного процесса [1,3].

Обнаружение HBeAg в крови пациентов после 2-х месяцев заболевания обозначает хронизацию патологического процесса [3]. В этом случае анти-HBe могут образовываться спустя много лет после появления антител к HBcAg или вовсе не выявляться.

Появление анти-HBe может иметь неблагоприятное прогностическое значение в остром периоде ВГВ при тяжелых формах, что соответствует мутации в pre-core зоне с образованием HBV "e-" штамма [3,5,6].

Целью данной работы была разработка высокочувствительных и специфичных иммуноферментных тест-систем для выявления HBeAg и анти-HBe и оценка их основных характеристик.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1. Иммуноферментная тест-система "ДС-ИФА-HBeAg". Действующим началом теста являются поликлональные антитела козы к рекомбинантному HBeAg, производства НПО "Диагностические системы", Н.Новгород, сорбированные на твердую фазу, и конъюгат, представляющий собой поликлональные антитела козы к рекомбинантному HBeAg, меченные пероксидазой хрена, производства НПО "Диагностические системы", Н.Новгород. Схема проведения анализа представляет собой одностадийный "сэндвич". Общая продолжительность реакции 1,5 часа. Образец сыворотки анализируется неразведенным.

2. Иммуноферментная тест-система "ДС-ИФА-анти-HBe". Основу теста составляют рекомбинантный HBeAg (AHBV 102), производства НПО "Диагностические системы", Н.Новгород, сорбированный на твёрдой фазе, и конъюгат анти-IgG с пероксидазой хрена, производства "Сорбент Сервис", Москва. Реакция проходит в две стадии. К иммобилизованному антигену добавляют исследуемую сыворотку в разведении 1/10, и после инкубации и удаления не связавшихся компонентов проводят выявление специфических иммунокомплексов с помощью мышиных моноклональных антител против IgG человека, меченных пероксидазой хрена.

3. Для оценки разработанных тест-систем было использовано 2178 образцов сывороток крови. Из них 480 образцов сывороток здоровых доноров. 1680 образцов представляли собой образцы сывороток крови, содержащие различные маркёры вируса гепатита В. Восемнадцать образцов были получены от пациентов с клиническим диагнозом "острый вирусный гепатит В". Предварительно все образцы были проверены на наличие HBsAg, HBeAg, анти-HBe, анти-HBc с помощью тест-систем производства НПО "Диагностические системы", Н.Новгород: "ИФА-HBsAg/m", "ДС-ИФА-HBeAg", "ДС-ИФА-анти-HBe", "ИФА-анти-HBc".

4. Сравнительную оценку разработанных тест-систем осуществляли с помощью препарата "Monolisa HBe", производства BIO-RAD, Франция.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В НПО "Диагностические системы" разработаны 2 новых диагностикума: "ДС-ИФА-HBeAg" и "ДС-ИФА-анти-HBe". Тест-система "ДС-ИФА-HBeAg" предназначена для выявления е-антигена вируса гепатита В в сыворотке (плазме) крови людей методом иммуноферментного анализа и может быть использована для специфической диагностики, определения активности инфекционного процесса, прогнозирования тяжести и исхода гепатита В.

Тест-система "ДС-ИФА-анти-HBe" предназначена для выявления антител класса IgG к е-антигену вируса гепатита В в сыворотке (плазме) крови человека и может быть использована при прогнозе течения инфекционного процесса и контроле проводимой терапии при гепатите В.

Для изучения специфичности новых тестов была проведена оценка распределения оптической плотности (ОП) образцов сывороток крови, содержащих и не содержащих HBeAg или анти-HBe. Были использованы образцы сывороток крови доноров и образцы сывороток крови, содержащие различные маркёры вируса гепатита В. Результаты исследования показали достоверное разделение двух популяций. Значения ОП образцов сывороток, не содержащих HBeAg, колебались в пределах от 0,011 до 0,111, а основной пик образцов сывороток, содержащих HBeAg, находился в пределах значения ОП от 2,186 до 3,186 (рисунок 1а).

Пик, соответствующий группе сывороток с низкой ОП (0,3-0,6), вероятно, составляют образцы, отобранные на ранних этапах инфекционного процесса. Уже в инкубационном периоде у больных закономерно регистрируются в крови HBsAg и HBeAg, что подтверждает их потенциальную эпидемиологическую опасность [3].

Диапазон ОП образцов сывороток, не содержащих анти-HBe, находился в пределах от 0,002 до 0,122, а основной пик ОП, содержащих анти-HBe, находился в пределах от

2,431 до 3,231(рис. 1б).

Были изучены особенности распределения ОП анти-HBe положительных образцов сывороток, содержащих (n=78) и не содержащих HBsAg (n=56). Оптические плотности 87% анти-HBe положительных образцов сывороток, не содержащих HBsAg, находились в пределах от 0,41 до 0,81 (рис.2б). При этом лишь у 14% анти-HBe положительных образцов, содержащих HBsAg, ОП была в этом диапазоне (рис.2а). Известно,что в фазу поздней реконвалесценции при отрицательной реактивности на HBsAg постепенно происходит снижение титров антител к HBeAg. Поэтому, возможно, преимущественная концентрация анти-HBe-положительных образцов соответствовала ОП меньше 0,8. (рис.2б). Полученные данные свидетельствуют о достоверности разделения положительных и отрицательных образцов сывороток крови независимо от стадии заболевания.

Изучение чувствительности и специфичности тест-систем "ДС-ИФА-HBeAg" и "ДС-ИФА-антиHBe" проводили в сравнении с тестом "Monolisa HBe" ("BIO-RAD",Франция) (табл.1).

Данные, приведённые в таблице 1,показывают 100%-ное совпадение результатов.

Известно, что дополнительное прогностическое значение имеет сочетанная индикация HBeAg и анти-HBe,особенно их количественная оценка. Быстрое нарастание титра анти-HBe характеризует активный гуморальный иммунный ответ и практически исключает угрозу хронизации [3].

Нами проанализировано изменение содержания HBeAg/анти-HBe в образцах сывороток крови пациентов с клиническим диагнозом "острый вирусный гепатит В" (табл.2).

Все образцы сывороток были исследованы на наличие серологических маркёров ОГВ: HBsAg, Анти-HBc, Анти-HBcIgM. Период наблюдения варьировал от 13 до 38 дней. У больных №1, №2 и №6 анти-HBe обнаружены уже на фоне снижения титра HBeAg. У пациентов №3 и №4 анти-HBe появились после исчезновения из сыворотки крови HBeAg на 21 и 8 день соответственно. Анализ сыворотки крови на HBeAg пациента №5, сделанный при поступлении его в стационар, дал отрицательный результат. При этом была зарегистрирована конверсия на анти-HBe уже в первый день обследования.

У всех обследуемых прослежена тенденция к увеличению титра антител к HBeAg в сыворотке крови, что позволяет прогнозировать благоприятную динамику клинических проявлений ОГВ и скорое выздоровление.

Проведенное изучение новых тест-систем показало их высокую диагностическую надежность. Результаты сравнения "ДС-ИФА-HBeAg" и "ДС-ИФА-анти-HBe" показали 100%-ное совпадение с тестом "Monolisa HBe".

При исследовании образцов сывороток больных гепатитом В в динамике, тесты подтвердили высокую чувствительность и специфичность.

Короткое время инкубации исследуемых образцов и конъюгата (один час) позволяет в минимальные сроки определить правильную тактику проведения лечебных мероприятий. Созданные тест-системы удобны в постановке, экономичны (требуется 50 мкл сыворотки для определения HBeAg и 10 мкл сыворотки для определения анти-HBe). Высокие качественные характеристики тестов позволяют успешно использовать их при прогнозе течения инфекционного процесса и контроле проводимой терапии при гепатите В.

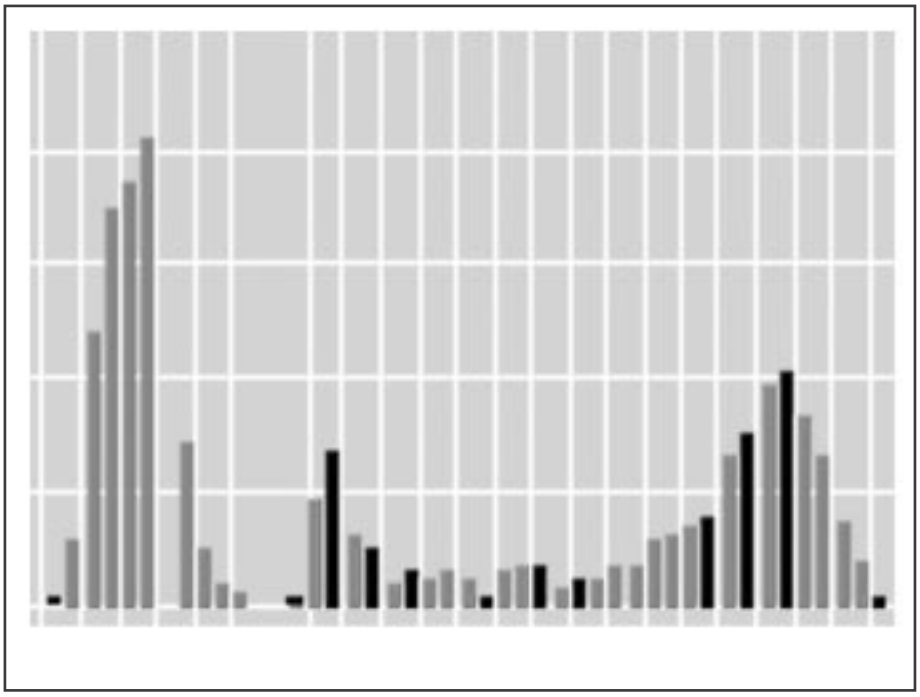


Рисунок 1а
Распределение образцов сывороток, содержащих и не содержащих HBeAg в тест-системе "ДС-ИФА-HBeAg"

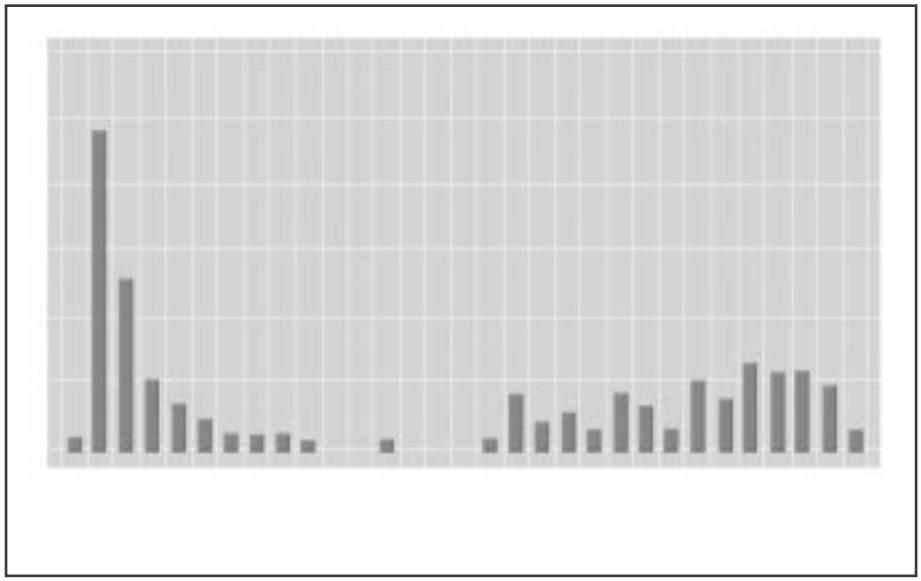


Рисунок 2а
Особенности распределения анти-HBe-положительных сывороток, содержащих HBsAg в тест-системе "ДС-ИФА-анти-HBe"

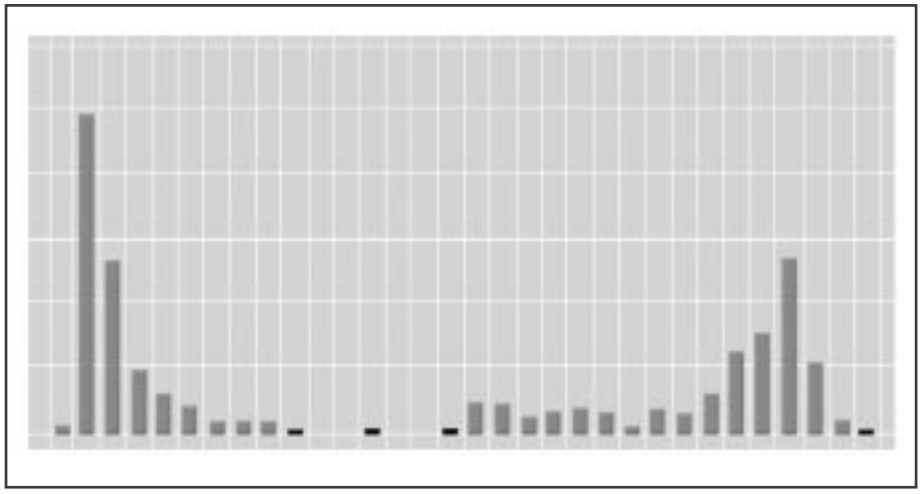


Рисунок 1б
Распределение образцов сывороток, содержащих и не содержащих анти-HBe, в тест-системе "ДС-ИФА-анти-HBe"

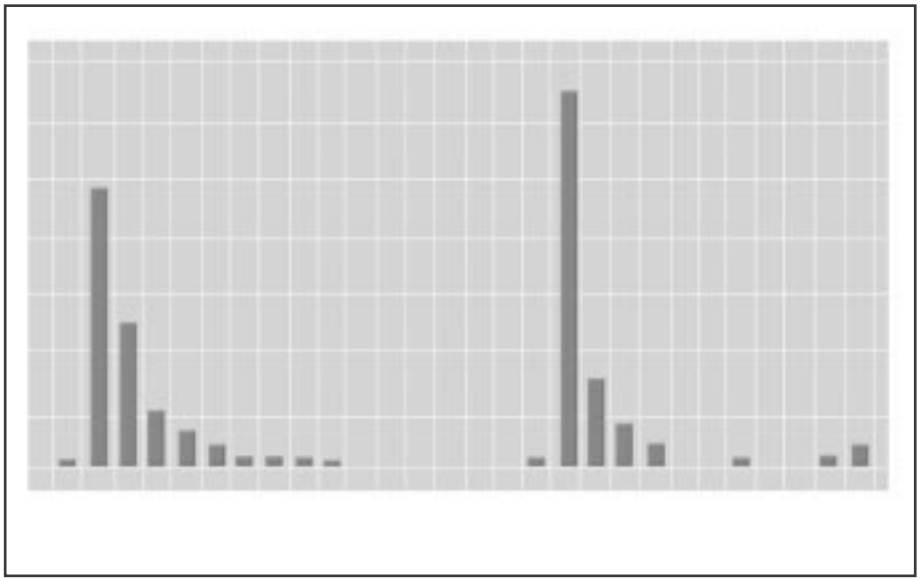


Рисунок 2б
Особенности распределения анти-HBe-положительных сывороток, не содержащих HBsAg в тест-системе "ДС-ИФА-анти-HBe"

Таблица 1

Сравнительная характеристика чувствительности и специфичности тест-систем "ДС-ИФА-НвеАg" и "ДС-ИФА-антиНВе" Динамика сероконверсии НВеАg/анти-НВе у больных ОГВ

Показатель	Определение НВеАg		Определение антиНВе	
	НПО "ДС", ДС-ИФА-НВеАg	"BIO-RAD", "Monolisa HBe"	НПО"ДС", ДС-ИФА-антиНВе	"BIO-RAD", "Monolisa HBe"
Количество исследованных образцов	67	67	32	32
Выявлено положительных образцов	47	47	16	16
Выявлено отрицательных образцов	20	20	16	16

Таблица 2

Динамика сероконверсии НВеАg/анти-НВе у больных ОГВ

Обследуемый больной	День отбора крови*	НВеАg	Анти-НВеО-Побр/ОПкр	НВsАg	Анти-НВс	Анти-НВсIgM
1	1	1,4+	2,1+	+	+	+
	12	0,5-	1,0+	+	+	+
	21	0,3-	1,3+	+	+	+
2	1	1,2+	1,2+	+	+	+
	5	0,4-	1,0+	+	+	+
	13	0,2-	2,5+	+	+	+
3	1	1,2+	0,6-	+	+	+
	21	0,2-	4,6+	+	+	+
	30	0,2-	9,7+	+	+	+
4	1	2,1+	0,5-	+	+	+
	8	0,6-	1,1+	+	+	+
	28	0,3-	2,8+	+	+	+
5	1	0,7-	2,2+	+	+	+
	8	0,3-	2,2+	+	+	+
	15	0,3-	2,8+	+	+	+
	38	0,2-	3,0+	+	+	+
6	1	1,1+	4,4+	+	+	+
	14	0,5-	3,8+	+	+	+

** от поступления в стационар*

ЛИТЕРАТУРА

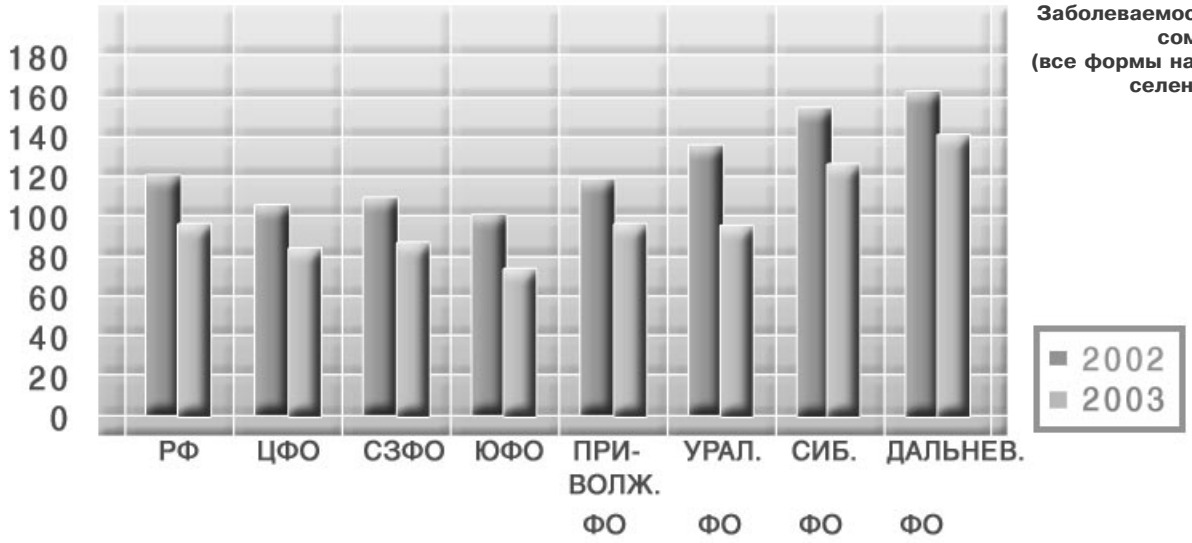
1. Майер К.П. Гепатит и последствия гепатита /К.П. Майер. — М.,ГЕОТАР,Медицина,
-1999. — 720С.
2. Онищенко Г.Г. Распространение вирусных гепатитов как угроза национальной безопасности /Г.Г. Онищенко,Л.А. Дементьева //Журнал микробиологии.
-2003. — №4. — С.93-99.
3. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты /С.Н.Соринсон. — Санкт-Петербург,Теза
-1997. — 306 С.
4. Baumeister M. Hepatitis B Virus e Antigen Specific Epitopes and Limitations of Commercial Anti-HBe Immunoassays /M. Baumeister //Journal of Medical Virology.
- 2000. — №60. — P.256-263.
5. Kane M. Global program for control of hepatitis B infection /M. Kane// Vaccine.
-1995. — № 131(Suppl. 1). — P.47-9.
6. Shunichi Sato. Hepatitis B Virus Strains with Mutations in the Core Promoter in Patients with Fulminant Hepatitis /Shunichi Sato, Kazuyuki Suzuki//Annals of Internal Medicine.
-1995. — №122. — P.241-248.
7. Ou J. -H. Molecular biology of hepatitis B virus e antigen. /J.-H.Ou // Journal of Gastroenterology and Hepatology.
-1997. — № 12 (Suppl.1) — P. 178- 187.
8. Tiollais P. The hepatitis B virus. / P.Tiollais,C.Pourcel,A.Dejean // Nature.
-1985. — P. 317,489-495.

Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)

1/62 Заболеваемость сифилисом (все формы) в субъектах Российской Федерации (Статистические материалы за 2002-2003 годы, М, 2005)

Субъекты Российской Федерации	Абсолютные числа		На 100 000 населения		Темпы прироста
	2002	2003	2002	2003	2003
Российская Федерация	171283	135702	119,9	95,2	0,79
Центральный ФО	38131	30381	104,9	83,8	0,80
Белгородская обл.	1046	880	69,8	58,7	0,84
Брянская обл.	1590	1181	113,3	84,6	0,74
Владимирская обл.	1279	97	81,7	62,7	0,76
Воронежская обл.	2355	1855	98,0	77,5	0,79
Ивановская обл.	1508	1021	127,4	86,8	0,68
Калужская обл.	1017	731	96,5	69,7	0,72
Костромская обл.	697	498	91,4	65,7	0,71
Курская обл.	1618	1466	126,7	115,5	0,91
Липецкая обл.	1543	1035	126,0	84,8	0,67
Московская обл.	7292	6415	113,9	100,3	0,88
Орловская обл.	893	690	101,5	78,8	0,77
Рязанская обл.	1204	846	96,5	68,3	0,70
Смоленская обл.	1421	1160	130,2	107,0	0,82
Тамбовская обл.	1046	826	84,9	67,5	0,79
Тверская обл.	1693	1369	109,8	89,4	0,81
Тульская обл.	1988	1462	118,5	87,8	0,74
Ярославская обл.	1312	935	95,2	68,1	0,71
Москва	8628	7034	101,1	82,4	0,82
Северо-Западный ФО	15414	12224	108,5	86,4	0,79
Респ. Карелия	1030	723	136,6	96,1	0,70
Респ. Коми	1026	897	9203	81,1	0,87
Архангельская обл.	1369	958	96,3	7,7	0,70
Ненецкий АО	58	21	128,3	46,2	0,36
Вологодская обл.	1266	1063	97,7	82,4	0,84
Калининградская обл.	1431	1133	151,9	20,5	0,79
Ленинградская обл.	1937	1517	117,7	92,4	0,78
Мурманская обл.	1514	1154	155,8	119,	0,76
Новгородская обл.	1012	811	143,2	115,4	0,80
Санкт-Петербург	3938	3103	86,0	68,0	0,79
Южный ФО	20696	15361	99,4	73,9	0,74
Респ. Адыгея	421	327	94,7	73,6	0,78
Респ. Дагестан	757	597	34,6	27,1	0,79
Респ. Ингушетия	54	52	11,5	11,0	0,96
Респ. Кабардино-Балкария	620	469	79,4	60,1	0,76
Респ. Калмыкия	315	327	104,2	109,3	1,04
Респ. Карачаево-Черкесия	481	413	112,5	96,9	0,86
Респ. Сев. Осетия-Алания	271	291	40,0	43,0	1,07
Чеченская Респ.	-	-	0,0	0,0	-
Краснодарский край	5940	4489	119,3	90,3	0,76
Ставропольский край	2630	1858	99,7	70,6	0,71
Астраханская обл.	1949	1452	193,5	144,3	0,75
Волгоградская обл.	2753	1893	104,8	72,4	0,69
Ростовская обл.	4505	3193	105,5	75,0	0,71

Субъекты Российской Федерации	Абсолютные числа		На 100 000 населения		Темпы прироста
	2002	2003	2002	2003	2003
Приволжский ФО	**37165**	**30223**	**117,8**	**96,1**	**0,81**
Респ. Башкортостан	5550	4424	135,8	108,4	0,80
Респ. Марий Эл	1164	1077	155,7	144,5	0,93
Респ. Мордовия	877	685	96,9	76,1	0,78
Респ. Татарстан	3552	2922	94,4	77,7	0,82
Удмуртская Респ.	2581	2204	160,1	137,1	0,85
Чувашская Респ.	1159	1085	86,3	81,0	0,94
Кировская обл.	1801	1525	116,1	98,9	0,85
Нижегородская обл.	3407	2612	95,2	73,3	0,77
Оренбургская обл.	2687	2249	122,6	102,9	0,84
Пензенская обл.	1477	1205	98,7	80,9	0,82
Пермская обл.	4677	3846	160,5	132,5	0,82
Коми-Пермяцкий АО	355	319	227,6	217,7	0,95
Самарская обл.	4293	3202	132,1	98,8	0,75
Саратовская обл.	2607	2178	97,8	82,0	0,84
Ульяновская обл.	1333	1009	93,1	70,8	0,76
Уральский ФО	**16913**	**11965**	**135,4**	**96,0**	**0,71**
Курганская обл.	939	627	87,9	59,0	0,67
Свердловская обл.	6223	4891	137,4	108,4	0,79
Тюменская обл.	4635	3169	141,2	96,3	0,68
Ханты-Мансийский АО	2156	1456	150,4	100,8	0,68
Ямало-Ненецкий АО	436	437	85,3	85,1	1,00
Челябинская обл.	5116	3278	141,5	90,9	0,64
Сибирский ФО	**31579**	**25723**	**154,2**	**126,0**	**0,81**
Респ. Алтай	458	436	223,4	212,5	0,95
Респ. Бурятия	1693	1499	166,6	147,9	0,89
Респ. Тыва	1019	811	328,2	261,1	0,80
Респ. Хакасия	1009	670	175,8	117,0	066
Алтайский край	2756	2182	105,6	83,9	0,79
Красноярский край	3930	3174	130,7	105,9	0,81
Таймырский АО	230	137	517,5	307,5	0,60
Эвенкийский АО	71	51	391,6	283,0	0,72
Иркутская обл.	5039	4032	186,3	149,5	0,80
Усть-Ордынский Бурятский АО	213	149	149,8	105,0	0,70
Кемеровская обл.	5602	4057	191,2	139,0	0,72
Новосибирская обл.	4104	3276	151,4	121,2	0,80
Омская обл.	2783	2219	131,4	105,2	0,80
Томская обл.	1505	1612	142,1	152,5	1,07
Читинская обл.	1681	1755	136,4	143,0	1,04
Агинский Бурятский АО	82	67	102,8	83,8	0,82
Дальневосточный ФО	**11385**	**9825**	**162,3**	**140,6**	**0,86**
Респ. Саха (Якутия)	1530	1302	155,8	132,7	0,85
Приморский край	3064	2991	144,7	141,8	0,98
Хабаровский край	2874	2285	194,1	154,8	0,80
Амурская обл.	1854	1669	189,5	171,3	0,90
Камчатская обл.	381	310	100,7	82,3	0,81
Корякский АО	50	-	177,2	0,0	0,00
Магаданская обл.	239	145	105,1	64,3	0,61
Сахалинская обл.	891	730	153,2	126,2	0,82
Еврейская авт. обл.	549	384	282,8	198,3	0,70
Чукотский АО	3	9	4,1	12,4	3,00



Заболеваемость сифилисом (все формы на 100000 населения)

СИФИЛИС

2/63 Серологическая диагностика сифилиса.

Serological diagnosis of syphilis.

S.I. Egglestone, A.L. Turner

Communicable Disease and Public Health, 2000, 3 (3): 158-162

PMID: 11014025

Введение

Сифилис — повсеместно распространенное заболевание, передающееся преимущественно половым путем. Сифилис относится к группе заболеваний, вызываемых спирохетами рода *Treponema.* Возбудитель сифилиса — *Treponema pallidum*. Другие трепонемы вызывают невенерические трепонематозы — фрамбезию *(Treponema pallidum pertenue)*, пинту *(Treponema carateum)* или эндемический сифилис *(Treponema pallidum endemicum)*. Серологические исследования остаются основными в лабораторной диагностике сифилиса, за исключением очень ранних стадий инфекции, когда возможно обнаружение трепонем прямой визуализацией их в темном поле или при флюоресцентной микроскопии.

Существует несколько важных аспектов в поддержку проведения серологического скрининга на сифилис. Во-первых, с помощью серодиагностики существует возможность распознавания латентной фазы инфекции, широко распространены и относительно недороги валидированные серологические тесты, доступно эффективное лечение заболевания. С другой стороны, при не диагностированных случаях сифилиса возможны серьезные неблагоприятные последствия (мертворождение, врожденный сифилис, дальнейшее распространение инфекции, третичный сифилис)

В последние годы произошел прогресс в области серологической диагностики сифилиса — это, в частности, появление иммуноферментных тестов (ИФА) на основе рекомбинантных антигенов, имеющих большую диагностическую ценность. В данной статье представлен обзор недавних научных открытий в диагностике сифилиса и приведено руководство по лабораторной диагностике, принятой в микробиологических лабораториях Великобритании.

В настоящий обзор не вошли стандарты лабораторной диагностики сифилиса, регламентируемые для учреждений, обеспечивающих безопасность трансфузионной крови и ее продуктов.

Течение инфекции и иммунный ответ

Естественное течение сифилиса очень вариабельно. Инфекция может протекать годами и имеет различные клинические проявления, которые классифицируются как ранний (инфекционный) и поздний (неинфекционный) сифилис. Ранний сифилис может быть подразделен на первичный, вторичный и ранний латентный. Поздний сифилис включает поздний латентный и разнообразные формы третичного сифилиса (табл. 1).

Таблица 1.

Классификация сифилиса

Ранний (инфекционный) сифилис	
Время после инфицирования	
9 - 90 дней	Первичный
6 недель - 6 месяцев (4 - 8 недель после появления первичного аффекта)	Вторичный
Не более 2 лет	Латентный (ранний)
Поздний (неинфекционный) сифилис	
Более 2 лет	Латентный (поздний)
3 - 20 лет	Третичный
	Гуммозный
	Кардиоваскулярный
	Нейросифилис
Врожденный сифилис	
Менее 2 лет после рождения, включая мертворождения	Ранний врожденный сифилис
Более 2 лет	Поздний врожденный сифилис

Примечание:

сифилис — это инфекционное заболевание, у взрослых наиболее часто передающееся через сексуальные контакты с человеком, страдающим первичным или вторичным сифилисом, однако, заражение может произойти и при раннем латентном сифилисе. Передача инфекции от матери к ребенку может произойти в стадии раннего сифилиса, а также зарегистрированы случаи инфицирования во время позднего латентного сифилиса.

Иммунный ответ при сифилисе включает образование антител к широкому спектру антигенов, включая неспецифические антитела (кардиолипиновые или липоидные) и специфические трепонемные антитела. Первым очевидным ответом на инфекцию является продукция специфических антитрепонемных IgM, которые могут определяться, начиная с конца 2-ой недели инфекции; антитрепонемные IgG появляются позднее, на 4-ой неделе заболевания. К моменту развития клинических симптомов большинство пациентов имеет детектируемые антитела классов IgG и IgM. Иммунный ответ (сроки и концентрация специфических антител) может варьировать при лечении или наличии ВИЧ-инфекции. Титры кардиолипиновых антител и специфических IgM резко снижаются при адекватном лечении раннего сифилиса; специфические IgG антитела обычно персистируют в течение нескольких лет. ВИЧ-инфекция может снижать или задерживать иммунный ответ при первичном сифилисе, но в большинстве случаев ответ является нормальным или усиленным.

Серологические тесты на сифилис и их применение

Серологические тесты на сифилис делятся на 2 группы.

1.Нетрепонемные тесты, которые определяют неспецифические трепонемные антитела. Они включают VDRL (Veneral Diseases Research Laboratory) тест и тест быстрых плазменных реагинов (RPR — Rapid Plasma Reagins).

2.Трепонемные тесты, определяющие специфические трепонемные антитела. Они включают гемагглютинационный тест (РПГА), реакцию иммунофлюоресценции (РИФ), большое число иммуноферментных тестов (ИФА) (см. табл. 2 и 3).

Таблица 2.

Основные нетрепонемные серологические тесты на сифилис

Принцип реакции	Тест
Липосомы в суспензии, дающие видимую флоккуляцию с антикардиолипиновыми антителами	VDRL
Липосомы в суспензии + свободные угольные частицы. Благодаря захвату угольных частиц в структурную решетку формирующего комплекса "антиген - антитело", образуются агрегаты черного цвета	RPR
VDRL антиген, покрывающий поверхность лунок в планшетах, связывает антитела. Детекция реакции происходит методом ИФА	ИФА (Reagin)
VDRL антиген, покрывающий поверхность лунок в планшетах; связывает антитела. Детекция реакции происходит с помощью анти-IgG плюс анти-IgM-покрытых эритроцитов	SPEA (Solid phase erythrocyte adherence

Таблица 3.

Основные трепонемные серологические тесты на сифилис

Антиген	Система фиксации	Тест
Интактные трепонемы	Трепонемы, фиксированные на стекле; микроскопическое считывание результатов	РИФабс
Очищенные (соникат) трепонемы	На эритроцитах	РПГА
	На желатиновых частицах	РПГА
	На планшетах для микротитрования	ИФА
	С помощью электрофореза через полиакриламидный гель белки сепарируются и переносятся на фильтры в методе вестернблот	Иммуноблоттинг
Рекомбинантные антигены	На планшетах для микротитрования	Рекомбинантный ИФА
	На латексных частицах	Латексная агглютинация

Обзоры диагностических характеристик и особенности их использования при разных стадиях сифилиса опубликованы ранее. Принцип серологической диагностики сифилиса - определение трепонемных антител в скрининговом тесте, после чего положительный результат необходимо подтверждать дальнейшим тестированием. Подтверждающий тест в идеале должен иметь эквивалентную чувствительность и более высокую специфичность по сравнению со скрининговым, а также должен быть методологически независимым, снижая, таким образом, вероятность совпадающих ложнопозитивных результатов. В случае положительного результата обычно используются парные образцы сывороток. Количественный нетрепонемный тест и/или детекция специфических трепонемных IgM могут быть полезны для оценки стадии инфекции и мониторинга эффективности лечения.

На практике серологические тесты на сифилис используются для:

* Скрининга асимптоматичных пациентов без сифилиса в анамнезе, таких как беременные женщины;
* Скрининга пациентов посещающих специализированные клиники по заболеваниям мочеполовой системы, имеющих риск недавнего заражения ИППП;
* Скрининга доноров крови (органов/тканей);
* Определения или исключения текущей или прошлой сифилитической инфекции у ВИЧ - инфицированных пациентов;
* Тестирования пациентов, у которых история болезни или клинические симптомы соответствуют сифилису, например, генитальные язвы

или хронические неврологические заболевания;

* Подтверждающего тестирования образцов, положительных в скрининговых тестах;
* Оценки стадии инфекции и мониторинга эффективности проводимой терапии.

Возможные варианты стратегии тестирования определяются, в основном, целями диагностики - необходимо определить все стадии сифилиса или только инфекционный сифилис. В США и некоторых странах Европы, включая Францию и Бельгию, нетрепонемные тесты используются для скрининга. Преимуществом данного подхода является то, что эти тесты не диагностируют адекватно леченые случаи, упрощая, таким образом, диагностику. Однако существуют и недостатки этого подхода. Скрининг неразведенных образцов с высоким титром антител одним нетрепонемным тестом может давать ложнонегативные реакции — эффект "прозоны", например, на ранней стадии инфекции или при сопутствующей ВИЧ-инфекции. Нетрепонемные тесты обладают недостаточной чувствительностью и на поздней стадии инфекции. Скрининг с использованием только нетрепонемного теста может также приводить к ложнопозитивным реакциям при различных острых или хронических состояниях в отсутствие сифилиса (биологические ложнопозитивные реакции). Однако недавно в США для скрининга банков крови стали применять трепонемные тесты и их использование, благодаря способности диагностировать позднюю стадию инфекции, было рекомендовано для скрининговых обследований пациентов психиатрических клиник.

В некоторых европейских странах, таких как Германия или Нидерланды, для скрининга используется РПГА, что обеспечивает хорошие результаты при всех стадиях заболевания, за исключением раннего первичного сифилиса. Так как в США сложилась многолетняя практика диагностики случаев первичной инфекции с помощью комбинации тестов VDRL и РПГА, использование только РПГА в лабораториях ограничено. Использование комбинации VDRL и РПГА обеспечивает высокую чувствительность и специфичность скрининга на всех стадиях сифилиса, кроме очень ранней первичной инфекции, но более трудоемко, чем проведение одного скринингового теста, интерпретация результатов субъективна, методы не могут быть автоматизированы. Учитывая перечисленные недостатки и диагностическую ценность современных тест-систем ИФА, все большее число лабораторий в США заменяют комбинацию VDRL и РПГА для целей скрининга использованием иммуноферментных тестов для определения противотрепонемных антител класса IgG или IgG и IgM. Преимущества метода ИФА — в получении объективных результатов, возможности прямого подключения считывающих устройств к персональным компьютерам (или к компьютерным сетям) и, следовательно, в возможности автоматизации. Совокупность этих диагностических характеристик делает метод ИФА наиболее предпочтительным для лабораторий с большой рабочей нагрузкой.

Коммерческие тест-системы ИФА были разработаны с тех пор, как ВОЗ рекомендовала использование комбинации нетрепонемных и трепонемных тестов для целей скрининга и диагностики, и многие диагностические центры Великобритании последовали этой практике. Опубликованные данные показывают, что скрининг с использованием трепонемных тест-систем ИФА на IgG дает сравнимые результаты с комбинацией VDRL и РПГА, а использование метода ИФА может быть полезным для детекции трепонемных антител у ВИЧ-инфицированных пациентов. Недавние исследования показали, что новые трепонемные тест-системы для определения IgG и IgM, основанные на рекомбинантных антигенах, являются наиболее высокочувствительными, высокоспецифичными и наиболее соответствующими целям скрининговых исследований.

Подтверждение результатов скрининга

В настоящее время метод $РИФ_{абс}$ все еще считается "золотым стандартом", но он имеет некоторые ограничения. Это — тест с субъективной оценкой результатов, который трудно стандартизовать. Кроме того, описаны ложнонегативные результаты в $РИФ_{абс}$ у ВИЧ — инфицированных пациентов. В коммерческом трепонемном ИФА тесте на IgG, широко использовавшемся при скрининге в Великобритании, были отмечены ложнопозитивные результаты. Метод РПГА обладает большей чувствительностью (за исключением 3-4 недели инфекции), а также более высокой специфичностью. Следовательно, в настоящее время РПГА является более приемлемым методом для подтверждения результатов ИФА. В случае применения РПГА для скрининга, в качестве подтверждающего теста можно использовать ИФА. Роль иммуноблоттинга в качестве подтверждающего теста не достаточно изучена. Потенциально для подтверждения результатов скрининга, полученных в ИФА, может быть применен иммуноферментный тест другого формата, однако это утверждение требует дальнейшего изучения.

Определение стадии инфекции и мониторинг эффективности лечения

При трепонемной инфекции использование количественного теста и/или тестов для определения специфических антитрепонемных антител IgM помогает оценить стадию инфекционного процесса и обеспечивает базу для мониторинга эффективности лечения. В основном, IgM перестают определяться на 3-9 месяце после адекватного лечения раннего сифилиса, но они могут персистировать и на протяжении 2-18 месяцев

после лечения в случае поздней стадии заболевания. Наличие специфических антитрепонемных IgM у пациентов, не получавших лечения, предполагает активную фазу инфекции и необходимость проведения курса терапии. Количественные нетрепонемные тесты, такие как VDRL/RPR, продолжают оставаться методами выбора для диспансерного наблюдения за пациентами и, следовательно, скорость элиминации специфических антител будет зависеть от их начального титра, стадии инфекции, эффективности терапевтического режима и ВИЧ-статуса пациента.

Определение специфических антитрепонемных антител класса IgM может также быть полезным при диагностике врожденного сифилиса, но так как отрицательный результат в течение некоторого времени после рождения не исключает наличия сифилиса у новорожденного, необходимым является серологическое наблюдение. Оно должно включать повторное определение IgM антител совместно с повторным количественным определением титра нетрепонемных и специфических трепонемных антител.

Выводы

Метод ИФА является удачной альтернативой комбинации тестов VDRL/RPR и РПГА для скрининга на сифилис. Если иммуноферментные тесты применяются в качестве скрининговых, то в качестве подтверждающего следует использовать альтернативный трепонемный тест, например, РПГА. Метод $РИФ_{абс}$, вероятно, следует использовать в качестве резервного для образцов, давших дискордантные результаты в предыдущих двух методах. Роль иммуноблоттинга и ИФА как подтверждающих тестов при использовании в качестве скрининговых иммуноферментных тестов нуждается в дальнейшей оценке. Поэтому их нельзя рекомендовать для рутинного использования.

Многие крупные лаборатории в Англии и Уэльсе в настоящее время используют метод ИФА для скрининга чаще, чем традиционную комбинацию VDRL/РПГА. Оба эти подхода удовлетворяют целям скрининга на всех стадиях сифилиса, но ИФА имеет практические преимущества, в связи с чем его использование рекомендовано лабораториям с большой рабочей нагрузкой (около 20000тестов в год). В зависимости от конкретных обстоятельств это может быть также рекомендовано и более мелким лабораториям. Опубликованы диагностические характеристики некоторых тест-систем ИФА и особенности их постановки. При принятии решения об использовании того или иного ИФА-теста необходимо учитывать такие факторы, как стоимость, простота использования, наличие автоматического оборудования, совместимость с иммуноферментными тестами других форматов, уже использующихся в данной лаборатории. Так, например, в Великобритании принято использование для скрининга либо ИФА (IgG или IgG/IgM), либо комбинации нетрепонемного и трепонемного тестов (VDRL/RPR и РПГА).

Рекомендации (см. алгоритм):

1. Обязательно подвергать диспансерному наблюдению серонегативных пациентов с недавним риском инфицирования ИППП, так как при раннем первичном сифилисе существует "серонегативное окно".

2. В случае сифилитической инфекции следует применить количественный нетрепонемный тест и/или тест на специфические трепонемные IgM антитела для диагностики стадии инфекции и мониторинга эффективности лечения заболевания.

3. Положительные в скрининговом тесте образцы требуют подтверждения в трепонемном тесте, обладающем такой же или более высокой чувствительностью.

4. Образцы, давшие дискордантные результаты в скрининговом и подтверждающем тесте, нуждаются в дальнейшем исследовании.

5. Все позитивные образцы следует направлять в референс-лабораторию для подтверждения результатов и формирования единой базы данных.

6. Для подтверждения позитивных образцов необходимо исследовать второй образец, взятый у больного через некоторое время после первого (10-14 дней). Затем пациента следует направить к специалисту по урогенитальным заболеваниям для принятия экспертного решения по дальнейшей тактике лечения заболевания.

7. Не рекомендуется скрининг с использованием только лишь одних нетрепонемных тестов из-за возможных ложнонегативных результатов.

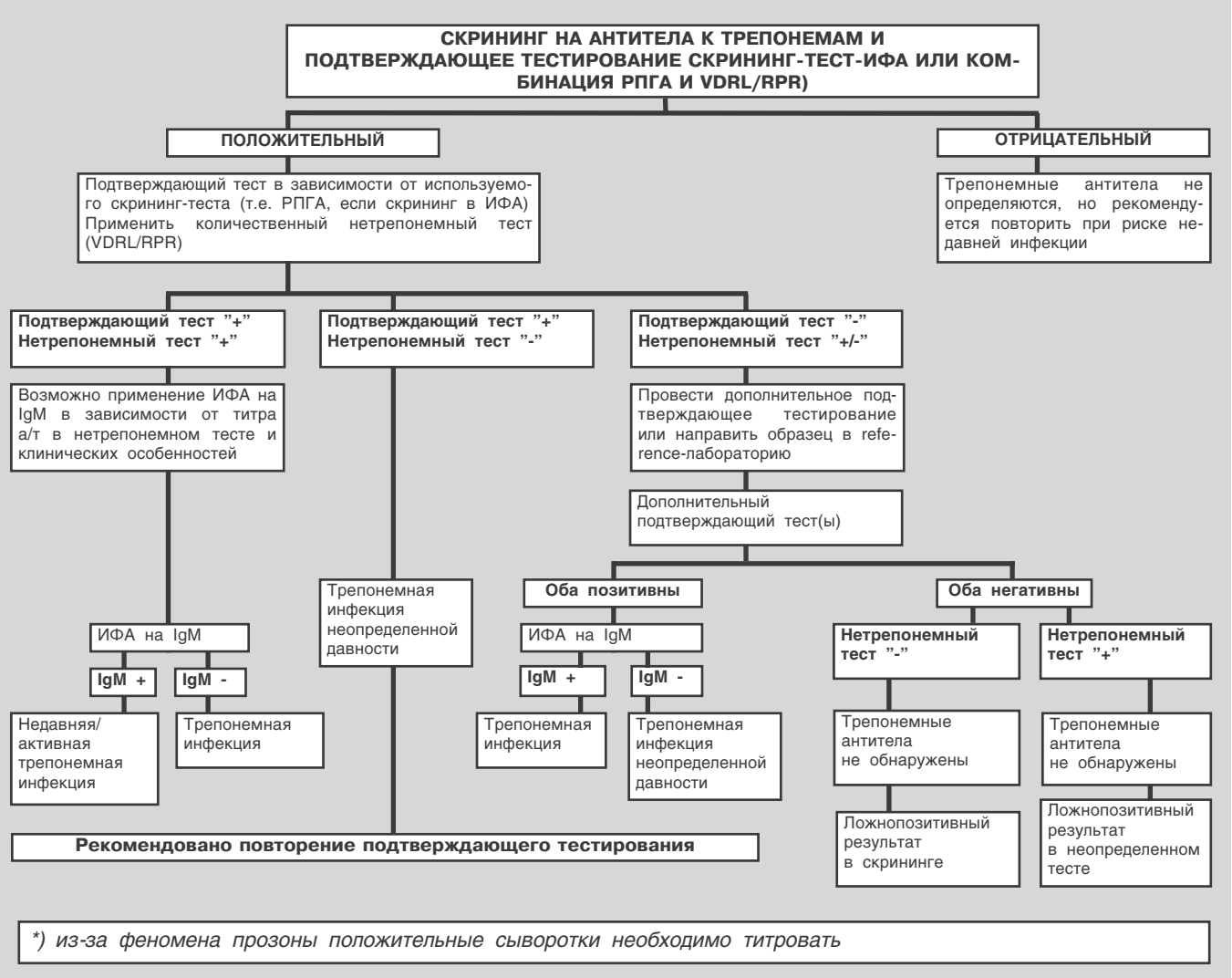


Рисунок.
Алгоритм скринингового и подтверждающего тестирования на сифилис

3/64 Иммунофлюоресцентный трепонемный тест для серологической диагностики сифилиса.

***Treponema pallidum* surface immunofluorescence assay for serologic diagnosis of syphilis.**

A. Marangoni, V. Sambri, E. Storini, A. D'Antuono, M. Negosanti, R. Gevenini

Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2000, 7 (3): 417-421

PMID: 10799455

Под наблюдением находилось 100 человек (74 мужчины и 26 женщин) в возрасте 21-68 лет с диагнозом сифилиса. При этом диагноз раннего сифилиса, поставленный на основании клинико-лабораторных данных, был у 46 человек; раннего латентного сифилиса — у 50 человек и позднего сифилиса — у 4 человек. В качестве группы сравнения в исследование были включены сыворотки от 50 доноров крови, 20 пациентов с болезнью Лайма, 20 пациентов с лептоспирозом. Дополнительно были исследованы 50 образцов сывороток (от 10 здоровых беременных женщин, 15 пациентов с кожными заболеваниями (системная красная волчанка, ветряная оспа), 15 ВИЧ-инфицированных, 5 пациентов с вирусными гепатитами с аутоиммунными реакциями и 5 пациентов с сахарным диабетом), позитивных в тесте Veneral Diseases Research Laboratory (VDRL) и негативных в тесте микрогемагглютинации (МНА-ТР), вестернблоте (WB) и реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ). Эти сыворотки были классифицированы как ложнопозитивные, поскольку они были получены от лиц без клинических признаков сифилиса.

Целью исследования было изучение чувствительности и специфичности теста поверхностной иммунофлюоресценции (SIFA) в сравнении с другими тестами: VDRL (Behring AG, Marburgan der Lahn, Germany), РИФ$_{абс}$ (Trepo Spot IF, BioMeriuex SA, Marcy l'Etoile, France), МНА-ТР (Fujirebio, Tokyo, Japan), WB (Bio-Rad, Hercules, Calif), РИБТ.

В сыворотках больных сифилисом антитела к поверхностным антигенам *T.pallidum* определя-

лись в тесте SIFA. Положительные сыворотки в тесте SIFA давали четкую флюоресценцию трепонем — чуть менее яркую,чем флюоресценция в реакции $РИФ_{абс}$ (табл.). SIFA,WB и VDRL показали более высокую чувствительность на ранней стадии сифилиса.

Таблица

Результаты анализов образцов плазмы больных сифилисом в разных тестах

Стадия сифилиса	Кол-во образцов	Кол-во положительных результатов анализов, абс. и в %					
		SIFA	WB	РИФ абс	МНА-ТР	РИБТ	VDRL
Первичный	26	25 (96)	25 (96)	17 (65)	17 (65)	0	25 (96)
Вторичный	20	20 (100)	20 (100)	19 (95)	17 (85)	12 (60)	20 (100)
Ранний латентный	50	50 (100)	50 (100)	50 (100)	46 (92)	36 (72)	50 (100)
Поздний	4	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)

Интересно, что 6 из 16 ВИЧ-инфицированных пациентов с первичным и 1 из 3 с вторичным сифилисом были позитивны в SIFA, WB и VDRL, но негативны в $РИФ_{абс}$ и в МНА-ТР. Все образцы сывороток от пациентов с ранним латентным сифилисом были позитивны в тестах SIFA, WB, $РИФ_{абс}$ и VDRL, в то время как в тестах РИБТ и МНА-ТР таких было 72% и 92% соответственно. Сыворотки от больных поздним сифилисом были положительны во всех тестах.

Сравнение чувствительности и специфичности данных тестов при исследовании сывороток от людей,больных сифилисом,болезнью Лайма,лептоспирозом и от здоровых доноров, выявило, что методы SIFA и WB обладают чувствительностью 99% и специфичностью 100%. $РИФ_{абс}$ продемонстрировал чувствительность и специфичность 90% и 89% соответственно; МНА-ТР — 84% и 98,5%; РИБТ — 52% и 100% соответственно.

Таким образом, результаты, полученные в настоящем исследовании, свидетельствуют о том, что метод SIFA является высокоспецифичным и чувствительным для диагностики сифилитической инфекции. В отличие от SIFA для диагностики *B.bugdorferi*, который продемонстрировал чувствительность только в поздней стадии болезни Лайма, SIFA для детекции специфических антител к *T.pallidum* был высоко чувствителен и в ранней, и в поздней стадии сифилиса. Полученные результаты предполагают возможность использования метода SIFA при диагностике сифилиса в качестве подтверждающего серологического теста.

4/65 Вторичные сифилитические поражения.

Secondary syphilitic lesions.

R.E. Baughn, D.M. Musher

Clinical Microbiological Reveiw, 2005, 18 (1): 205-216

PMID: 15653827

Многократно описанной за последние 3 столетия тенденцией в эпидемиологии (эволюции) сифилитической инфекции является достоверное уменьшение вирулентности возбудителя сифилиса — *Treponema pallidum* и частоты встречаемости вторичной инфекции. Еще в начале века большинство сифилидологов связывало уменьшение количества тяжелых манифестных форм сифилитической инфекции с распространением аттенуированных форм бледной спирохеты.

Однако в США после десятилетнего спада,который привел к самому низкому уровню заболеваемости в 2000 году, уровень как первичного, так и вторичного сифилиса, последовательно увеличивается с 2002 года. Регистрируемый рост заболеваемости,в значительной степени,связан с увеличением числа случаев сифилиса среди мужчин, особенно среди гомо- и бисексуалов, имеющих сексуальные связи с мужчинами.

Настоящий обзор содержит клинические и диагностические критерии распознавания вторичного сифилиса, современных особенностей течения и манифестации болезни.

5/66 Использование быстрого латексного агглютинационного теста на сифилис в качестве подтверждающего теста.

Syphilis fast latex agglutination test, a rapid confirmatory test.

M.B. Fears, V. Pope

Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2001, 8 (4): 841-842

PMID: 11427439

Цель данного исследования — сравнение быстрого латексного агглютинационного теста Syphilis Fast latex agglutination test (Syphilis Fast) (Diesse, Monteriggioni, Italy) с подтверждающим агглютинационным тестом на желатиновых частицах Serodia *T.pallidum* agglutination test (TP-PA) (FujirebioAmerica, Inc., Fairfield, New Jersey), который используется в настоящее время в Центре контроля заболеваемости (CDC, г. Атланта, штат Джорджия (США). В тесте TP-PA использованы желатиновые частицы, сенсибилизированные высокоочищенным соникатом *T.pallidum. B Syphilis Fast* тесте использовались латексные частицы, сенсибилизированные рекомбинантными антигенами *T.pallidum* (47, 17 и

15,5 кДа). Анализировались 255 образцов сывороток, которые предварительно были исследованы с помощью теста быстрых плазменных реагинов (RPR) (CDC, Atlanta, Ga.), TP-PA и Syphilis Fast. Образцы сывороток, давшие противоречивые результаты в двух трепонемных тестах, тестировались с помощью РИФ$_{абс}$. Регистрировалось совпадение результатов в двух любых трепонемных тестах (Syphilis Fast, TP-PA или РИФ$_{абс}$).

Результаты, полученные с использованием Syphilis Fast и TP-PA, совпали в 98,8% случаев (лишь 3 образца были дискордантны). Из 92 образцов, отрицательных в обоих тестах, 12 — были позитивны в тесте RPR. При использовании в качестве референс-теста РИФ$_{абс}$, в тесте Syphilis Fast выявлены 1 ложнопозитивный и 1 ложноотрицательный результаты.

Тест Syphilis Fast является, по мнению авторов, подходящим для клиник специализированной помощи (пренатальных или венерологических), так как в этом случае результаты могут быть получены менее, чем за 20 минут. Это позволяет избежать ненужного терапевтического вмешательства в случаях ложнопозитивных результатов нетрепонемных тестов. Больные сифилисом смогут получать своевременное лечение, снижая тем самым возможность заражения их половых партнеров и риск внутриутробной инфекции плода. Данный тест представляется таким же чувствительным как тест TP-PA и несколько более специфичным. Зарегистрированная чувствительность и специфичность теста Syphilis Fast составили 96,8% и 99,8% соответственно, в то время как чувствительность и специфичность теста TP-PA составили 91,7% и 95,3% соответственно. Показано, что белки с молекулярной массой 47, 15 и 15,5 кда, использованные при создании теста Syphilis Fast, являются эффективными диагностическими мишенями при диагностике сифилиса. Использование рекомбинантных антигенов позволило элиминировать несколько высокомолекулярных белков, которые были причиной неспецифической реактивности в случаях ложнопозитивных результатов, что, вероятно, способствовало повышению специфичности теста. Данный тест является удобным в постановке, не требует дополнительного оборудования, по времени реакции сопоставим с RPR тестом. Результаты теста Syphilis Fast легко читаются, ясно определяются различия между положительными и отрицательными результатами.

6/67 Распространенность и факторы риска сифилиса среди наркоманов.

Prevalence and risk factors of syphilis infection among drug addicts.

T. Kuhlmann, G. Reymann, M. Reker

BMC Infectious Diseases, 2005, 33 (5):

PMID: 15904501

Недавние эпидемиологические исследования выявили тенденцию к увеличению официальной заболеваемости сифилисом среди населения. Однако большое число случаев остается нераспознанным, особенно среди таких социальных групп, как наркоманы. Опубликованных данных о распространенности инфекции и факторах риска среди лиц незаконно употребляющих наркотики недостаточно.

В двух летнем исследовании, проведенном в Германии, под наблюдением находились 1223 человека, принимающих наркотики. Кроме того, принимался во внимание способ употребления наркотиков и сексуальное поведение. Для определения антитрепонемных антител использовался РПГА тест; пациенты с положительными результатами этого теста обследовались с помощью РИФ$_{абс}$.

В целом, результаты РПГА теста были положительны у 39 человек (3,3%), и у 7 человек (0,6%) выявлены антитела класса IgM. Распространенность сифилиса среди мужчин составила 1,9%; среди женщин — 8,5%. Положительные результаты РПГА теста регистрировались у женщин в 4,5 раза чаще ($p=0,05$), чем у мужчин. Такие поведенческие факторы риска, как высокое число половых партнеров, секс за деньги или наркотики, секс в первый день знакомства, оказались ассоциированы с сифилитической инфекцией лишь среди женщин. Женщины, часто вступающие в сексуальные связи ради денег или наркотиков, в 4,3 раза чаще ($p=0,05$), чем другие пациенты, имели специфические антитела в РПГА тесте. Среди мужской части испытуемых ни социодемографические, ни поведенческие факторы не оказались статистически значимо связанными с сифилитической инфекцией.

Таким образом, полученные результаты показывают необходимость скрининговых исследований на сифилис у лиц, употребляющих наркотики, в особенности, сексуально активных женщин.

7/68 Анализ технологии вестернблота (иммуноблоттинга) в диагностике врожденного сифилиса.

Analysis of Western blotting (Immunoblotting) technique in diagnosis of congenital syphilis.

M.P. Meyer, T. Eddy, R.E. Baughn

Journal of Clinical Microbiology, 1994, 32(3): 629-633

PMID: 8195370

Диагностика врожденного сифилиса у детей без клинических симптомов болезни продолжает оставаться проблематичной. Практически важно, что бы диагностический тест мог дифференцировать детей с врожденным сифилисом, рожденных от серопозитивных матерей, от неинфицированных детей. Данное исследование, включившее мониторинг детей группы риска без клинических проявлений болезни, позволило изучить эту проблему.

Исследовалась эффективность использования

вестернблота для диагностики врожденного сифилиса. Под наблюдением находились новорожденные г. Кейптаун (Южная Африка) и их матери. У 14-ти новорожденных наблюдались клинические проявления врожденного сифилиса, а у их матерей, не имеющих симптомов этой болезни, обнаружены антитела в реакции VDRL в титрах от 1:16 до 1:512. Кроме того,все имели положительный результат в трепонемном тесте РПГА. Женщины не получали превентивную терапию из-за отказа посещения или слишком поздней регистрации в клинике во время беременности. Наиболее частыми клиническими проявлениями врожденного сифилиса были гепатоспленомегалия,деформация костей,отеки и сыпь.

Двенадцать других младенцев при рождении не имели симптомов заболевания,однако при последующем наблюдении у них были диагностированы признаки врожденного сифилиса. Их матери не получали совсем или получали неадекватное лечение в последний месяц беременности. У них титр антител в реакции VDRL варьировал от 1:2 до 1:512,и у всех был положительный результат в РПГА. Четверо младенцев получали лечение в первые несколько дней после рождения,у 8-ми других к 4-месячному возрасту зарегистрировано 4-х кратное увеличение титра антител в VDRL.

Тридцать младенцев, рожденных от серопозитивных матерей, не получавших или получавших неадекватное лечение, были обследованы с помощью рентгенографии и теста VDRL. При диспансерном наблюдении клинические проявления врожденного сифилиса не выявлялись,а результаты VDRL были негативными.

Дополнительно методом вестернблота исследованы сыворотки от 10здоровых младенцев и их здоровых матерей с отрицательными результатами VDRL и РПГА. В качестве заведомо положительного образца исследования был использован пул сывороток от 10 взрослых пациентов с вторичным или ранним латентным сифилисом.

Чувствительность вестернблота была рассчитана как процент положительных результатов среди пациентов с врожденным сифилисом. Специфичность рассчитывалась как процент отрицательных результатов в блоте по отношению к общему числу неинфицированных детей. В настоящем исследовании результаты тестирования детей,рожденных от серопозитивных матерей,но не имеющих диагноза врожденного сифилиса, принимались за истинно негативные.

Выявлено, что антигены с молекулярной массой 47 и 45 кда являются наиболее иммуногенными в обеих группах пациентов — с симптомами врожденного сифилиса и без них. При исследовании сывороток от 12 детей с клинически инаппарантной формой заболевания положительный результат (антитела к антигенам 47 кда и/или 45 кда) был зарегистрирован в 8 из 12 случаев (чувствительность 66,7%). В целом, антитела к антигенам 72, 47, 45, 37, 33, 30, 17 и 15 кда определялись чаще у пациентов с врожденным сифилисом,чем у неинфицированных младенцев от серопозитивных матерей. Антитела к антигенам 84,42,39,28 и 24 кда были детектированы как в образцах сывороток инфицированных, так и здоровых младенцев,и были расценены как отрицательный результат. Учитывая эти критерии,чувствительность иммуноблота при диагностике врожденного сифилиса у детей с клиническими признаками врожденного сифилиса составила 92%; в случаях бессимптомного течения болезни — 83%. Специфичность его составила 90%. В сыворотках новорожденных с бессимптомным течением сифилиса обнаружены IgM антитела, причем в двух случаях из трех определялись антитела к 15 кда антигену.

При обследовании группы здоровых детей (30 человек) 27 имели отрицательные результаты в иммуноблоте.

Ложноположительные результаты наблюдались в пробах от 3 неинфицированных младенцев в возрасте 1-4 месяца,причем у 2 из них найден ревматоидный фактор. Детектировалась сероreактивность с антигенами 190,83,71,41 кда и с белком 45 кда.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том,что метод вестернблота является чувствительным даже при диагностике скрытых,инаппарантных форм заболевания и диагностически ценным подтверждающим тестом при диагностике врожденного сифилиса. Представляется перспективной идея упрощения подтверждающего теста,например,проведение ИФА вместо иммуноблоттинга. Наиболее диагностически ценными антигенами являются протеины с молекулярной массой 47 кда и 15 кда.

8/69 Сравнение трепонемного агглютинационного теста Serodia на микрочастицах, тестов Captia Syphilis-G и SpiroTek Reagin II со стандартными диагностическими методиками на сифилис.

Comparison of the Serodia Treponema pallidum particle agglutination, Captia Syphilis-G, and SpiroTek Reagin II tests with standard test techniques for diagnosis of syphilis.

V. Pope, M. B. Fears, W.E. Morrill, A. Castro, S.E. Kikkert

Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38 (7): 2543-2545

PMID: 10878040

Целями исследования были: 1) определение возможности использования агглютинационного трепонемного теста Serodia (TP-PA) на микрочастицах (FujirebioAmerica,Inc.,Fairfield,N.J.) и теста Captia Syphilis-G (Trinity Biotech, Dublin, Ireland) в качестве подтверждающего вместо микрогемагглютинационного теста (МНА-ТР); 2) определение, является ли Reagin II тест (Organon Teknika,

Durham, N.C.) достойной альтернативой RPR тесту (тесту быстрых плазменных реагинов (RPR), CDC) в качестве скринингового.

Диагностические характеристики тестов сравнивались с использованием стандартной панели производства CDC,содержащей 100образцов сывороток от больных сифилисом, 100 от больных прочими заболеваниями, и 50 сывороток, давших ложнопозитивные результаты в нетрепонемных тестах. Также было исследовано 390 случайно выбранных образцов из коллекции департамента по занятости населения штата Джорджия.

В качестве арбитражного и подтверждающего теста использовалась реакция флюоресценции ($РИФ_{абс}$).

Чувствительность и специфичность теста TP-PA оценивались с использованием стандартной панели (табл.).

Таблица

Чувствительность и специфичность теста TP-PA

Диагноз	Число образцов сыворотки	Serodia TP-PA тест	
		Чувствительность, %	Специфичность, %
Первичный сифилис			
нелеченый	9	89	
леченый	15	87	
Вторичный сифилис			
нелеченый	20	100	
леченый	30	100	
Скрытый сифилис			
нелеченый	6	100	
леченый	20	95	
Прочие заболевания	100		96
Ложнопозитивные образцы	50		94

В результате исследования выявлены очень незначительные различия между тремя трепонемными тестами. Совпадение результатов тестов МНА-ТР и TP-PA составило 97,4%, а тестов МНА-ТР и Syphilis-G — 97,7%. Результаты анализа образцов сывороток в тестах Reagin II и RPR совпадали в 89,2%.

Тест Reagin II является единственным нетрепонемным тестом в формате ИФА. Это делает его ценным для скринингового исследования большого количества образцов сывороток. Согласно опубликованным данным, тест RPR имеет чувствительность 86% для первичного сифилиса, в то время как Reagin II — 93%. Специфичность в соответствии с этими данными составляет 98% и 97% соответственно. Тест VDRL при диагностике первичного сифилиса имеет также специфичность 98%, но чувствительность — лишь 78%.

С учетом таких факторов, как стоимость и число анализов в наборе, тесты Syphilis-G и TP-PA представляются достойной альтернативой тесту МНА-ТР в качестве подтверждающего теста, а тест Reagin II — в качестве скринингового.

9/70 Серодиагностика сифилиса: антитела к рекомбинантным антигенам Tp0453, Tp92 и Gpd как чувствительные и специфичные показатели инфицирования *Treponema pallidum*.

Serodiagnosis of syphilis: antibodies to recombinant Tp0453, Tp92, and Gpd proteins are sensitive and specific indicators of infection by *Treponema pallidum*.

W.C. van Voorhis, L.K. Barret, S.A. Lukehart, M. Schriefer, B. Schmidt, C.E. Cameron

Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41 (8): 3668-3674

PMID: 12904373

Основными рекомбинантными белками, используемыми в настоящее время в серодиагностике сифилиса,являются аналоги антигенов внутренней мембраны или трансмембранных липопротеинов *Treponema pallidum*.

Целью настоящего исследования явилось изучение чувствительности и специфичности 6 рекомбинантных белков, являющихся аналогами протеинов внешней мембраны *T.pallidum*, при использовании их в иммуноферментном тесте для диагностики сифилиса. Чувствительность тестов, созданных на основе данных антигенов,была изучена при исследовании сывороток от больных сифилисом (43 человека),а специфичность — при исследовании сывороток от людей, страдающих другими спирохетозными инфекциями (8 — от больных возвратным тифом, 8 — болезнью Лайма,9 — лептоспирозом) и сывороток от 15 не инфицированных сотрудников лаборатории.

Предполагаемые антигенные детерминанты мембранных белков были предсказаны с использованием компьютерного анализа аминокислотных последовательностей. Продукты амплификации выбранных фрагментов ДНК были клонированы в *E.colli* и белки были экспрессированы. Каждый протеин был использован индивидуально в качестве антигена в иммуноферментном анализе для выявления антител в сыворотке пациентов.

Антитела к трем рекомбинантным белкам (Tp0453, Tp92 и Gpd) детектировались почти во всех образцах сывороток от больных сифилисом. Антитела к Tp0453 присутствовали во всех 43 образцах сывороток, в то время как антитела к белкам Tp92 и Gpd — лишь в 42 и 39 образцах соответственно. Антитела к белку Tp0453 не были обнаружены в образцах сывороток больных сифилисом. В одном образце сыворотки больного возвратным тифом определялись на уровне пограничного значения к белку Tp92, и три сыворотки содержали антитела к Gpd (табл.). Существенно меньшее число сывороток больных сифилисом реагировало с антигенами Tp0155 (12 из 43), Tp0483 (18 из 43) и Tp0751 (18 из 43). Сыворотки от 4 больных ранним первичным сифилисом, при отрицательных результатах в тесте VDRL, содержали антитела к белку Tp0453. Иммунореактивность, наблюдаемая с антигенами Tp0453, Tp92 и Gpd в ИФА тесте, хорошо коррелировала с результатами и титрами РПГА (МНАТР).

Таблица

Диагностические характеристики рекомбинантных антигенов в ИФА тесте

Рекомбинантный антиген	Диагностические характеристики ИФА теста	
	Чувствительность, %	Специфичность, %
Tp0453	100	100
Tp92	98	97
Gpd	91	93

Таким образом, иммуноферментный тест с использованием рекомбинантного аналога предполагаемого белка внешней мембраны Tp0453 продемонстрировал высокую чувствительность при исследовании сывороток от больных сифилисом и хорошую специфичность при анализе сывороток как от людей неинфицированных, так и от больных другими спирохетозными инфекциями. Использование рекомбинантных антигенов является экономически выгодным и снижает вероятность ложнопозитивных реакций.

10/71 Лабораторная диагностика врожденного сифилиса методом иммуноблоттинга с определением иммуноглобулинов классов IgM и IgA.

Laboratory diagnosis of congenital syphilis by immunoglobulin M (IgM) and IgA immunoblotting.

J.L. Schmitz, K.S. Gertis, C. Mauney, L.V. Stamm, J.D. Folds

Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 1994, 1(1): 32-37

PMID: 7496918

Диагноз врожденного сифилиса часто ставится на основании клинических данных, так как стандартные серологические тесты на сифилис, использующиеся при диагностике инфекции у матери, не способны дифференцировать материнские антитела от собственных антител новорожденного. В то же время, многие инфицированные младенцы при рождении не имеют симптомов сифилиса, и может пройти несколько месяцев, прежде чем увеличение титра в тесте VDRL или наличие реактивности в $РИФ_{абс}$ позволят подтвердить диагноз. Следовательно, необходим качественный тест для диагностики врожденного сифилиса у новорожденных детей группы риска.

Серологические тесты, детектирующие IgM антитела, являются ценным инструментом в диагностике врожденного сифилиса. Основной целью исследования была оценка применения метода вестернблота с определением иммуноглобулинов классов IgM и IgA в качестве скринингового теста для диагностики врожденного сифилиса.

В течение 1 года (1991-92 гг.) были отобраны последовательные образцы пуповинной крови и сывороток у 101 ребенка из группы риска врожденного сифилиса (формировалась из детей, рожденных от серопозитивных матерей) и их матерей (штат Северная Каролина, США). Ребенок был отнесен к группе риска, если он был рожден серопозитивной матерью. Все образцы сывороток отбирались в течение 24 часов после рождения и были протестированы стандартными серологическими нетрепонемным (VDRL — Veneral Disease Research Laboratory) и трепонемным тестами ($РИФ_{абс}$ производства Instar Corporation, Stillwater, Minn.). Пуповинная кровь или образцы сывороток от 8 из 10 детей с серологически и/или клинически подтвержденным врожденным сифилисом были проанализированы методом ИФА — "ловушка" (ELISA; DCL-Captia Syphilis-M; Diagnostic Chemicals, Limited, Oxford, Conn.), а также на наличие ревматоидного фактора в латексном тесте (Rheuma-Lex; Trinity Laboratories Inc., Raleigh, N.C.). Титры антител в материнских сыворотках в тесте VDRL колебались в пределах от 1:1 до 1:512. Восемьдесят один образец был также реактивен в $РИФ_{абс}$. Результаты теста VDRL у детей варьировали от нереактивных до 1:512 (см. табл.). Клиническое обследование позволи-

ло выявить 6 детей (с одним или более) клиническими проявлениями врожденного сифилиса. Наиболее частыми проявлениями заболевания были патология костно-мышечной системы, печени, недоношенность, эпилептические припадки, пневмония, тромбоцитопения, нарушение слуха, сыпь.

Сыворотки пяти из этих шести детей с проявлениями сифилиса были позитивны в блоте для определения IgM и четырех — в блоте для IgA. Среди детей без клинических проявлений сифилиса антитела класса IgM обнаружены в 3 образцах сывороток, а IgA антитела — в 2 образцах. "Ловушечный" тест ИФА-capture для определения IgM подтвердил наличие этих антител в 6 IgM-блотреактивных сыворотках из 7.

Основное количество IgM-реактивных сывороток (6 из 7) демонстрировало реактивность с белком 47 кда. Исследования выявили меньшую реактивность с антигенам 45,17 и 15 кда. Неожиданным результатом исследований было обнаружение в одном образце сыворотки от младенца антител к белку 93 кда.

В целом, для диагностики клинически выраженного врожденного сифилиса чувствительность вестернблота определена как 83% для детекции специфических антител класса IgM и 67% — антител класса IgA. Диагностическое значение положительных результатов блота на IgM и IgA у бессимптомных пациентов нуждается в подтверждении в дальнейших исследованиях.

Таблица

Результаты клинических и серологических исследований детей с предполагаемым врожденным сифилисом1

№ ребенка	Титры в тесте VDRL		Вестернблот2		ИФА на IgM	Ревматоидный фактор
	Матери	Дети	IgM	IgA		
Дети с киническими проявлениями врожденного сифилиса						
21	1:256	1:128	+	+	+	+
32	1:64	1:512	+	+	+	+
50	1:128	1:64	+	+	+	+
56	1:64	1:16	-	-	+	-
66	1:128	1:16	+	-	+	-
117	1:512	1:256	+	+	НО3	НО
Дети без признаков врожденного сифилиса						
68	1:32	1:16	+	-	+	-
76	1:256	1:128	+	-	-	НО*
96	1:32	1:2	-	+	НО	-
103	1:2	1:2	+4	+	+	+

Примечание1:

1. включая всех детей с клиническими и/или серологическими (положительный результат в вестернблоте на IgM и/или IgA) признаками врожденного сифилиса

2. "+" — наличие реактивности к любому протеину, "-" — полное отсутствие реактивности

3. "НО" — неопределенный

4. фракция IgG удалена абсорбцией с рекомбинантным протеином G.

Примечание 2:

НО — при отсутствии реактивности 47 кда*

ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ

11/72 Оценка рекомбинантного иммуноблота Chiron HIV-1/HIV-2.

Evaluation of Chiron HIV-1/HIV-2 Recombinant Immunoblot Assay

R.L.Kline, D.McNairn, M.Holodniy, L.Mole, D.Margoils, W.Blattner, T.C.Quinn

Journal of Clinical Microbiology, 1996, 34(11): 2650-2284

PMID: 8897158

В настоящее время стандартной методикой лабораторного подтверждения инфицирования вирусом иммунодефицита человека является Western-blot.Однако для этого метода описаны неспецифические реакции при исследовании ВИЧ-негативных сывороток, которые могут приводить к получению неопределенных и ложнопозитивных результатов. Так, ложнопозитивные результаты могут возникать: при контаминации вирусного лизата,нанесенного на стрипы,клеточными антигенами; при обследовании во время беременности; при высоком уровне билирубина в образце; при гемолизе образца сыворотки. По данным ряда авторов, 20-33% негативных в иммуноферментных тестах (ИФА) сывороток, в блоте имеют неопределенный результат. Кроме того, от 4% до 20% сывороток, неоднократно имевших положительный результат в ИФА, также имеют неопределенный результат в Western-blot. Пациенты с неопределенным результатом должны обследоваться повторно через 2-3 месяца, что для большинства является причиной беспокойства и тревоги. Кроме того, повторное обследование связано с дополнительными финансовыми затратами. Хотя донации крови с повторными положительными результатами скрининга на антитела к ВИЧ не используются,неопределенные результаты иммуноблота создают для центров крови дополнительные трудности, связанные с оповещением и консультированием доноров и отстранением от повторных кроводач. Лица с неопределенным результатом иммуноблота потенциально могут иметь проблемы с получением медицинской страховки.

Для совершенствования алгоритма подтверждения инфекции ВИЧ-1 и ВИЧ-2, было предложено использование альтернативной Western-blot тест-системы — Chiron RIBA HIV-1/HIV-2 (RIBA HIV-1/2 SIA), основанной на использовании рекомбинантных белков — аналогов вирусных антигенов.

Материалы и методы

Для определения антител к ВИЧ-1,2 в тесте RIBA HIV 1/2 SIA используется принцип иммуноблота. На каждый стрип нанесены четыре рекомбинантных антигена ВИЧ-1 — p24 (gag), gp41(env), gp120(env), p31(pol), один рекомбинантный вирусный антиген p26 (gag) и синтетический пептид, аналог трансмембранного белка ВИЧ-2. Антигены иммобилизованы на нитроцеллюлозном стрипе в виде пяти полос (p24 и p26 соединены в одной полосе).

Образцы сывороток крови ВИЧ-инфицированных и лиц с высоким риском заражения ВИЧ (N=1263) исследовались на наличие антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 с использованием иммуноферментного теста производства Abbott Laboratories, (Abbott Park III, Organon Teknika, Durban, N.C.), и двух иммуноблотов — RIBA HIV-1/2 SIA (RIBA) и Western-blot (WB) (Cambridge Biotech, Worcester, Mass; Diagnostic Biotechnology Ltd.). Результат в подтверждающих тестах оценивали как позитивный,если присутствовали две из трех полос: p24, gp41, gp120/gp160 и как негативный, если не было отмечено ни одной полосы. В случае если присутствовали полосы, не отвечающие вышеприведенным критериям, результат расценивали как неопределенный. Образцы с противоречивыми результатами в RIBA и WB были в дальнейшем протестированы с использованием иммунофлуоресцентного теста (Waldheim Pharmazeutika Fluorognost HIV-1 immunofluorescent assay — IFA) и HIVAG EIA, Abbott Laboratories — на наличие антигена p24. Образцы исключали из дальнейших экспериментов в случае неопределенного результата после проведенных дополнительных исследований.

Результаты

При исследовании 1 263 образцов в 481 детектировались специфические антитела к ВИЧ-1, в 215 — к ВИЧ-2, в 17 образцах — к обоим типам вируса, 548 — дали негативный результат и 2 — неопределенный. При исследовании в RIBA HIV-1/2 SIA результат двойного инфицирования был подтвержден во всех 17 образцах; 480 из 481 ВИЧ-1 позитивного образца были также позитивны в RIBA; все образцы, позитивные на ВИЧ-2, в RIBA также дали позитивный результат (чувствительность 99,8%) (табл. 1).

Таблица 1.

Сравнение результатов исследований в RIBA HIV-1/2 SIA и Western-blot.

Образец	RIBA HIV-1/2 SIA					ВИЧ-1/ВИЧ-2 Western blot		
	ВИЧ-1 и ВИЧ-2 поз.	ВИЧ-1 поз.	ВИЧ-1 поз.	Неопре-дел.	Негативн.	Позиитвн.	Неопре-дел.	Негативн.
ВИЧ-1 и ВИЧ-2 позитивные (n=17)	17	0	0	0	0	16	1	0
ВИЧ-1 позитивные (n=481)	0	480	0	1	0	481	0	0
ВИЧ-2 позитивные (n=215)	0	0	215	0	0	158	57	0
Негативные (n=548)	0	2	1	22	523	5	152	391

Все ВИЧ-1 позитивные образцы и 16 из 17-ти образцов, позитивных на оба вируса, были позитивны в WB (чувствительность 99,8%). Из 548 негативных образов, 523 были интерпретированы в RIBA HIV-1/2 SIA как негативные, 22 негативных образца были неопределенными, 2 негативных образца были интерпретированы как ВИЧ-1 позитивные, 1 — как ВИЧ-2 позитивный (специфичность 95,4%). Все неопределенные и ложноположительные в RIBA HIV-1/2 SIA образцы были негативными в ВИЧ-1/ВИЧ-2 IFA, и ни один из исследованных образцов не был положительным в HIVAG EIA. При исследовании в WB, 391 из 548 негативных образцов был интерпретирован как негативный (специфичность 71,4%); 152 негативных образца, 57 ВИЧ-2 позитивных образцов и 1 ВИЧ-1 и ВИЧ-2 позитивный образец были интерпретированы как неопределенные; 5 негативных образцов — как ВИЧ-1 позитивные.

В таблице 2 представлены данные о чувствительности, специфичности и доле неопределенных результатов в RIBA HIV-1/2 SIA и WB в исследованных группах. Для всех популяций специфичность RIBA HIV-1/2 SIA была выше, чем у Western blot, а количество неопределенных результатов меньше. Кроме того, коинфицирование другими вирусами, такими, как Т-лимфотропный вирус человека 1 типа, вирус простого герпеса, вирус гепатита С и вирус гепатита В, не влияло на специфичность RIBA HIV-1/2 SIA и WB.

Таблица 2

Чувствительность, специфичность и количество неопределенных результатов у RIBA HIV-1/2 SIA и Western blot при исследовании различных групп населения.

Группа	Число обсл.	Чувствительность, %		Специфичность, %		% неопределенных результатов	
		RIBA SIA	Western blot	RIBA SIA	Western blot	RIBA SIA	Western blot
Больные СПИДом	200	100	100			0	0
Пациенты с другими заболеваниями	80	93,8	100	96,9	79,2	3,8	13,8
Лица, имеющие высокий риск инфицирования ВИЧ	361	100	100	98,1	76,8	1,8	20,5
Лица, проживающие в зонах, эндемичных по ВИЧ-1	149	100	100	85,0	30,0	2,0	9,4
Лица, проживающие в зонах эндемичных по ВИЧ-1 и ВИЧ-2	471	100	99,2*	89,4	58,3	3,0	23,6

Примечание:

Чувствительность метода для этой группы населения была рассчитана с учетом только образцов позитивных на ВИЧ-1 и на ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поскольку Western blot не предназначен для детекции ВИЧ-2 позитивных образцов.

Обсуждение

При исследовании 1263 образцов установлено, что подтверждающий тест RIBA HIV-1/2 SIA основанный на использовании рекомбинантных антигенов может быть адекватной заменой иммуноблоту с использованием вирусных лизатов. Чувствительность RIBA HIV-1/2 SIA составила 99,8%, что сравнимо с чувствительностью WB. Тест прост в исполнении, время анализа составляет 6 часов (против 16-20часов для лицензированного теста сравнения).

Большой проблемой иммуноблотов как подтверждающих тестов являются неопределенные результаты. Одной из потенциальных причин неопределенных результатов может быть обследование в острый период инфекции, когда синтез антител к ВИЧ находится в начальной стадии и когда антитела представлены не ко всем основным антигенам. Однако, в исследованиях ряда авторов, в том числе и в настоящей работе показано, что крайне редко причиной неопределенного результата в иммуноблоте является ранняя сероконверсия. Так, например, ни один из образцов с неопределенным результатом в иммуноблоте не дал позитивного результата на p24.

Другими причинами неопределенных результатов могут быть ложноположительные результаты вследствие беременности, гемолиза сыворотки, загрязнения клеточными антигенами, повышенного уровня билирубина, наличия аутоантител. В настоящем исследовании 210 образцов (16,7%) имели неопределенный результат при использовании WB: 57 — от ВИЧ-2 позитивных, 152 от лиц, негативных по ВИЧ-1 и ВИЧ-2, и 1 — от пациента инфицированного обоими типами вирусами. При использовании RIBA HIV-1/2 SIA наблюдалось существенно меньшее количество неопределенных (n=22) и ложноположительных результатов (n=3) по сравнению с WB (n=210 и n=5, соответственно), специфичность тестов составила 95,4% и 71,4%, соответственно. При исключении из анализа неопределенных результатов, специфичность RIBA HIV-1/2 SIA составит 99,4%, а Western blot — 98,7%.

Сокращение числа неопределенных результатов при использовании RIBA HIV-1/2 SIA дает возможность избежать дополнительных и повторных исследований, а также избавляет пациента от стресса, связанного с неопределенным результатом анализа.

Тест-система RIBA HIV-1/2 SIA показала высокую эффективность при изучении возможности дифференциации инфекции вызванной ВИЧ 1 типа от ВИЧ-2.

К сожалению, стоимость набора RIBA HIV-1/2 SIA, также как и Western blot производства Cambridge Biotech все еще остается достаточно высокой для использования в качестве рутинного метода.

12/73 Тактика ведения ВИЧ инфицированных пациентов с генитальным герпесом (ГГ).

Management of genital herpes in HIV-infected patients.

F. Y. Aoki

Herpes, 2001, 8 (2): 41-45
PMID: 11867017

Тактика ведения ГГ у ВИЧ-инфицированных пациентов отличается от таковой у неинфицированных по трем причинам.

Во-первых, рецидивирующий ГГ у ВИЧ-положительных пациентов чаще имеет тенденцию к резистентности из-за снижения уровня CD4+ лимфоцитов.

Во-вторых, инфекция, вызванная вирусом простого герпеса (или ВПГ-инфекция), способствует активной репликации ВИЧ и, возможно, облегчает передачу ВИЧ-инфекции.

Наконец, иммуносупрессия при ВИЧ-инфекции увеличивает вероятность возникновения устойчивых к терапии форм ВПГ.

Несмотря на широко пропагандируемую в мире практику безопасного секса, являющуюся следствием эпидемии ВИЧ-инфекции в 1980-1990-е годы, распространенность ВПГ-2 инфекции продолжает увеличиваться. Так, среди здорового населения США частота обнаружения антител к ВПГ-2 в период с 1976 по1994 год выросла от 16 до 20,8%. Среди ВИЧ-инфицированных распространенность ВПГ- 2 инфекции гораздо выше (хотя и варьирует географически) и составляет от 81% в группе ВИЧ-позитивных мужчин — жителей Балтимора до 88% среди ВИЧ-инфицированных женщин гаитянского происхождения и 95% — ВИЧ-инфицированных женщин Заира, занимающихся проституцией.

В настоящее время созданы достаточно эффективные и безопасные лекарственные препараты для лечения первичного и рецидивирующего генитального герпеса у ВИЧ-инфицированных пациентов, включая формы с лекарственной устойчивостью к ацикловиру и его аналогам — фамцикловиру и ганцикловиру. Однако остается неясным вопрос о том, сочетают ли доступные в настоящее время антивирусные препараты эффективность и безопасность. Предстоит выработать оптимальные схемы применения противовирусных препаратов и найти оптимальный метод лечения ВПГ-инфекции, предотвращающий вероятность реактивации ВИЧ-коинфекции.

В данной статье автор подробно излагает подходы к терапии ГГ у ВИЧ-инфицированых:

* Лечение первичного ГГ
* Лечение рецидивирующего ГГ
* Эпизодическая терапия рецидивирующего ГГ
* Супрессивная терапия рецидивирующего ГГ
* Лечение ацикловир-резистентных форм инфекции

ГЕРПЕСВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

13/74 Роль серологических методов диагностики ВПГ-1 и ВПГ-2 инфекции.

The changing epidemiology of HSV-1 and HSV-2 and implications for serological testing.

W.E. Lafferty

Herpes, 2002, 9 (2): 51-55
PMID: 12106513

Изменение эпидемиологических показателей ВПГ-1 и ВПГ-2 инфекции частично обусловлено биологическими характеристиками этих близкородственных вирусов. Оба вируса локализуются в поясничных ганглиях, обеспечивая сохранение вируса в организме в латентной форме, и определяются в секрете генитального тракта при отсутствии клинических симптомов, развитие инфекции сопровождается поражением урогенитального тракта.

Однако, ВПГ-2 чаще вызывает обострения с выраженной клиникой по сравнению с ВПГ-1. Продолжительность бессимптомного периода, в течение которого вирус выделяется из генитального тракта, больше в случае ВПГ-2 инфекции. По этой причине ВПГ-2 чаще является этиологическим агентом рецидивирующего генитального герпеса, чем ВПГ-1. Напротив, оральная ВПГ-2 инфекция возникает очень редко и почти всегда обнаруживается в ассоциации с сопутствующей первичной генитальной инфекцией.

Оральная ВПГ-1 инфекция, перенесенная в детстве, может служить защитой от генитальной ВПГ-1 инфекции во взрослом возрасте. В случае же возможного ее развития более вероятным является субклиническое течение заболевания. Напротив, первичное ВПГ-1 инфицирование не защищает пациента от дальнейшего инфицирования ВПГ-2.

В США, в ходе реализации Национальной программы исследования здоровья и питания населения (1988 — 1994 гг.) было установлено, что распространенность ВПГ-2 инфекции у лиц в возрасте 12 лет и старше составила 21,9%; регистрировалось также ее увеличение на 30% по сравнению с предыдущим исследованием в 1976-1980гг. Были определены следующие независимые факторы риска инфицирования ВПГ-2: принадлежность к женскому полу, возраст, низкий образовательный уровень, увеличение числа половых партнеров, принадлежность к мексиканской этнической группе или к черной расе. Математической моделью, основанной на этих данных, прогнозировался ежегодный рост первичной заболеваемости ВПГ-2 инфекцией на 82%.

В европейских исследованиях опубликованы данные по частоте встречаемости генитальных инфекций, вызываемых ВПГ-1 и ВПГ-2. В Великобритании доля случаев генитального герпеса, вызванного ВПГ-1, за период 1978-1991 гг. увеличилась с 20% до 40%. В Швеции, у пациентов с первым эпизодом генитального герпеса, обратившихся в профильные клиники за период 1992-1995 гг., 44% случаев были вызваны ВПГ-1. В Норвегии частота встречаемости генитальных ВПГ-1 инфекций составила 36% в 1987-1989 гг. и 51% — в 1996-1998 гг.

Причины такого рода тенденции окончательно не выяснены. Вероятное объяснение заключается в снижении числа инфицирования ВПГ-1 в детском возрасте, что приводит к формированию прослойки взрослого населения, восприимчивой к оральной и генитальной инфекции. Чаще всего это происходит в развитых странах с высоким уровнем жизни. Так как выделение ВПГ-1 зачастую происходит бессимптомно, то лица, не имеющие иммунитета к ВПГ-1 и практикующие оральный секс, составляют группу повышенного риска генитальной ВПГ-1 инфекции.

Генитальная ВПГ инфекция: значение серодиагностики

* **скрининг групп риска:** положительный серологический результат на ВПГ-2 почти всегда является результатом урогенитальной инфекции, и соответствующая консультация инфицированных пациентов может предотвратить широкое распространение заболевания и улучшить "управление" данной инфекцией. Однако ни один серологический тест не может дифференцировать генитальную инфекцию от оральной, поэтому эффективность скрининга на ВПГ-1 должна оцениваться индивидуально, в зависимости от исследуемой популяции.
* **консультирование пар:** необходимо для партнеров, дискордантных по серологическому ВПГ статусу. Увеличение распространенности первичной генитальной ВПГ-1 инфекции в развитых странах означает, что для полной оценки риска необходимо тестирование молодых пар на оба серотипа ВПГ. Так для серологически негативных лиц, не имеющих специфических антител к ВПГ, высок риск генитальной инфекции при контакте с партнером, инфицированным ВПГ-1, ВПГ-2 или вирусами обоих типов. Пациенты, серопозитивные на ВПГ-1, также подвержены риску заражения ВПГ-2.
* **антенатальное тестирование:** типоспецифическая серодиагностика ВПГ инфекций у беременных является рутинным тестом в таких

странах как США, где относительно высока распространенность неонатального герпеса. Первичная генитальная ВПГ-1 или ВПГ-2 инфекция у серонегативной матери, или ВПГ-2 инфекция у ВПГ-1 серопозитивной матери в третий триместр создает высокий риск инфицирования новорожденного при родах. Рекомендовано использование типоспецифических серологических тестов для определения риска инфицирования женщины во время беременности. Увеличение распространенности ВПГ-1 как причины генитального и неонатального герпеса в развитых странах является показанием к тестированию на оба серотипа ВПГ.

* **диагностика инфекции в научных исследованиях:** клиническая диагностика генитальной ВПГ инфекции не совершенна. В исследовании с участием 74 пациентов с клиническим диагнозом "генитальный герпес" диагноз оказался корректным лишь в 60 случаях (81%). Таким образом, необходимым является лабораторное подтверждение клинического диагноза.

* **клиническая оценка симптомов при рецидивах:** типоспецифическая ВПГ-2 серодиагностика может быть весьма полезной при рецидивирующих генитальных заболеваниях со стертой, неявной симптоматикой. В этом случае положительный серологический результат на ВПГ-2 мог бы служить поводом для назначения эффективной терапии, в то время как негативный результат позволил бы исключить ВПГ-2 как причину заболевания. ВПГ-1 серодиагностика может иметь ограничения в применении из-за неспособности дифференцировать оральную и генитальную инфекцию и из-за более низкого вклада ВПГ-1 в распространенность рецидивирующего генитального герпеса.

Несмотря на то, что интерпретация результатов типоспецифической серодиагностики ВПГ-1 и ВПГ-2 достаточно сложная, оценка риска и диагноз генитальной ВПГ инфекции должен включать тестирование и на ВПГ-1, и на ВПГ-2. В этих случаях для получения максимального эффекта от проведенного тестирования будут важны информационные материалы (пособия), четко разъясняющие значение различных результатов для пациента.

14/75 Эпидемиология редко встречающихся клинических форм (проявлений) ВПГ-1-инфекции

The epidemiology of uncommon herpes simplex virus type 1 infections.

Y.S. Hwang, S.L. Spruance

Herpes, 1999, 6 (1): 16-19 PMID:

Вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) в настоящее время является "забытым" вирусом, так как большее внимание уделяется вирусу простого герпеса 2 типа (ВПГ-2). ВПГ-1 традиционно рассматривается лишь как причина "герпетической лихорадки", которая поражает каждого пятого человека, оказывая, однако, в случае частых или серьезных рецидивов, значительное психологическое воздействие. К тому же, спектр заболеваний, вызываемых ВПГ-1, не ограничивается лишь оролабиальными проявлениями и включает генитальные инфекции, энцефалит, кератит, неонатальные заболевания, пневмонию и эзофагит у иммунокомпрометированных лиц.

С развитием диагностических технологий заболевания, ранее считавшиеся идиопатическими, в настоящее время тесно связываются с ВПГ-1 инфекцией. Паралич Белла — один из показательных примеров применения современных диагностических технологий, расширяющих спектр заболеваний, известных как ассоциированные с ВПГ-1.

В данной статье рассмотрены прежние и современные эпидемиологические модели некоторых редких заболеваний, возникновение которых в настоящее время связывают с ВПГ-1.

Существуют предположения об изменении эпидемиологической ситуации как с ВПГ-1 инфекцией, так и с распространением связанных с ней заболеваний. Поскольку в целом уровень жизни возрос, эпидемиология заболеваний изменилась. Улучшение санитарных условий и снижение перенаселенности в промышленноразвитых странах привели к уменьшению распространенности многих инфекционных заболеваний, таких как ВПГ-1. К другим факторам, участвующим в изменении эпидемиологии ВПГ-ассоциированных заболеваний, относят увеличение численности иммунокомпрометированных ВИЧ-инфицированных лиц, а также лиц-реципиентов органов. Усовершенствованные методы диагностики ВПГ-1 позволили выявить новые заболевания и/или необычные проявления ВПГ-1 инфекции.

Энцефалит

Энцефалит, вызванный вирусом простого герпеса (обычно ВПГ-1), является опасным для жизни проявлением инфекции. В США ежегодная первичная заболеваемость составляет примерно 1 случай на 200000 человек, а в Северной Европе — 1 на 400000. ВПГ-энцефалит возникает во всех возрастных группах: 30% случаев — у пациентов до 30 лет и более половины случаев — у пациентов старше 50 лет. Большинство случаев обусловлены реактивацией латентной ВПГ-1 инфекции. Однако у новорожденных энцефалит, сопровождающий 35% неонатального герпеса, в большинстве случаев вызван ВПГ-2.

Кератит

Кератит, вызванный вирусом простого герпеса, является ведущей причиной слепоты в США. У детей старшей возрастной группы и у взрослых заболевание обусловлено ВПГ-1, а у новорожденных — обычно ВПГ-2. Источником заболевания при этом является человек с орофациальным герпесом, занесший вирус возбудителя в глаза

руками. Существует связь между оральной и окулярной ВПГ инфекцией. Однако исследования на животных позволили предположить, что при первичной оральной инфекции вирус может проникать в глаз интраневральным путем, персистируя в латентном состоянии в роговице.

Мультиформная эритема (МЭ)

Вирус простого герпеса — один из нескольких возбудителей МЭ-рецидивирующего заболевания с характерными поражениями кожных покровов.

Ежегодная первичная заболеваемость МЭ (случаи, требующие госпитализации) — 7,4 - 46,5 случаев на 1 миллион населения. В 80% случаев МЭ протекает легко в виде ограниченных повреждений кожи с периодическими рецидивами и составляет 1% от всех случаев обращений в дерматологические поликлиники.

Герпетическая экзема

Это еще одна клиническая разновидность, связанная с широко распространенной кожной формой ВПГ инфекции, наблюдается у лиц с диагностированной ранее атопической экземой или другим кожным заболеванием.

Большинство случаев обусловлено первичной ВПГ-1 инфекцией, но также описаны и рецидивы. Патогенез рецидивов болезни до конца не изучен.

Пневмония

Большинство случаев пневмонии, вызванной ВПГ, случается у иммунокомпрометированных лиц и обусловлено реактивацией ВПГ-1 с первичной оролабиальной локализацией или бессимптомным выделением вируса из ротоглотки с нисходящей инфекцией на трахеобронхиальное дерево. Также в группу риска входят больные в критическом состоянии, инфицированные ВПГ-1.

Исследователями показано, что во многих случаях ВПГ-1 может быть причиной возникновения респираторного дистресс-синдрома у взрослых.

Другим заболеванием респираторного тракта, связанным с ВПГ у иммунокомпрометированных лиц и выявляющимся часто только на аутопсии, является трахеобронхит. ВПГ может быть причиной устойчивого к терапии бронхоспазма, причем с большей вероятностью, нежели предполагалось ранее.

Эзофагит

Герпетический эзофагит вызывается, как правило, ВПГ-1 и является частой патологией у иммунокомпрометированных лиц.

Большинство таких случаев обусловлено первичной ВПГ-1 инфекцией. Однако у иммунокомпрометированных ВИЧ-инфицированных пациентов ВПГ вызывает эзофагит реже (4-16%), чем ЦМВ (около 40%).

Описаны факторы риска герпетического эзофагита: назогастральные процедуры, терапия стероидными гормонами, терапия при злокачественных новообразованиях, низкий уровень CD4+ клеток.

Герпетический панариций

Герпетический панариций — болезненное поражение околоногтевых тканей пальца. Причиной чаще всего является самозаражение: у детей это — первичная ВПГ-1 инфекция ротоглотки, у взрослых это — обычно генитальная ВПГ-2 инфекция.

Герпес гладиаторов *(Herpes Gladiatorum)*

Это кожное проявление ВПГ инфекции, наблюдающееся у лиц, занимающихся контактными видами спорта (регби, рестлинг и др.). Вирус проникает при контакте через поврежденную кожу во время соревнований, очаги поражения развиваются в течение 1-2 недель. Заболевание может рецидивировать. В большинстве случаев в местах поражения обнаруживается ВПГ-1.

Редкие клинические проявления ВПГ-инфекции.

Острый ретинальный некротический синдром ранее связывался с VZV-инфекцией, но может вызываться и ВПГ. Синдром включает: диффузный увеит, ретинальный васкулит, некротический ретинит, витреит, отслойку сетчатки. Патогенез его изучен недостаточно.

Фарингит — одно из необычных проявлений ВПГ-инфекции. Около 10% случаев ангин могут быть обусловлены первичной оральной ВПГ-1 инфекцией, причем клинически дифференцировать их невозможно.

ВПГ-1 иногда может поражать толстый кишечник, вызывая диарею.

Редким проявлением ВПГ-инфекции является лимфаденит.

Установлена связь между ВПГ-инфекцией и реакцией отторжения трансплантата, а также между ВПГ-инфекцией и артериосклерозом кардиального аллотрансплантата.

Паралич Белла — в большинстве случаев представляет монолатеральный паралич лицевой мускулатуры при остром воспалении и компрессии лицевого нерва.

Наличие ВПГ-1 и ВПГ-2 может определяться во всех спинномозговых ганглиях. Предполагается, что ВПГ может быть этиологическим агентом при различных синдромах поражений нервов (обонятельного, вестибулярно-слухового, глоссофарингеального, блуждающего).

Описаны случаи ВПГ-ассоциированной пептической язвы.

Менингит Молларета — доброкачественный рецидивирующий асептический менингит — редкое заболевание с неясной до конца этиологией. Существует мнение, что одним из возможных этиологических факторов является ВПГ-2.

15/76 Целесообразность проведения типоспецифического серологического скрининга всех беременных женщин на ВПГ-инфекцию.

Дискуссия: аргумент "ЗА"

Should all pregnant women be offered type-specific serological screening for HSV infection?

Debate: the argument for

G.R. Kinghorn

Herpes, 2002, 9 (2): 46-47

PMID: 12106511

Основная задача по предупреждению неонатального герпеса заключается в выявлении женщин, имеющих риск инфицирования во время беременности, с последующим снижением этого риска. Существующие стратегии предупреждения неонатального герпеса базируются на распознавании клинических симптомов у матерей в момент родов, что малоэффективно, так как основная масса случаев неонатального герпеса — результат не диагностированного инфицирования беременной на поздних сроках. Современные типоспецифические серологические тесты на ВПГ-1 и ВПГ-2 позволяют на ранних сроках определить серологический статус беременной, оценить риск и выработать стратегию предупреждения герпетической инфекции, как у будущей матери, так и у ребенка.

Наличие специфических антител к ВПГ-2 в ранние сроки беременности, с большой долей уверенности позволяет утверждать, что риск инфицирования плода минимален и, при условии отсутствия обострений ВПГ-2 инфекции, возможны роды естественным путем. Большее значение серологическое тестирование имеет для выявления серонегативных женщин, особенно тех, чьи партнеры инфицированы ВПГ. Это позволяет выбрать варианты сексуального поведения, направленные на снижение риска инфицирования женщины. Возможно также проведение супрессивной противовирусной терапии у партнера.

Практика исследования парных образцов сывороток крови в динамике и использования подтверждающих тестов позволяет существенно увеличить прогностическое значение положительного результата серологического теста в популяциях с низкой распространенностью заболевания.

Для оценки эффективности применения типоспецифического серологического скрининга беременных необходимо выяснение следующих аспектов: распространенность неонатального герпеса, доступность и надежность скрининговых тестов, возможные негативные последствия в случае выявления факта дискордантности в паре, стоимость тестирования и консультирования. Потенциальная эффективность типоспецифического серологического скрининга состоит в снижении затрат на лечение неонатального герпеса, и последующих затрат (социальных, образовательных, медицинских) в случаях нетрудоспособности во время обострений инфекции. К тому же серологический скрининг поможет снизить частоту применения кесарева сечения и, следовательно, риск материнской заболеваемости и смертности.

16/77 Следует ли проводить типоспецифический серологический скрининг всех беременных женщин на ВПГ-инфекцию?

Дискуссия: аргумент "ПРОТИВ"

Should all pregnant women be offered type-specific serological screening for HSV infection?

Debate: the argument against

A.M. Arvin

Herpes, 2002, 9 (2): 48-50

PMID: 12106512

Первостепенной задачей при снижении заболеваемости ВПГ и смертности среди детей является снижение риска инфицирования женщины во время беременности, особенно на поздних сроках. В зависимости от результатов проведенных типоспецифических серологических тестов у беременных, они могут быть дифференцированы на ВПГ-серонегативные, ВПГ-1 и/или ВПГ-2 серопозитивные. При этом также необходимо обследовать полового партнера для выявления серодискордантных пар. В зависимости от серологического статуса обоих партнеров, вырабатывается стратегия сексуального поведения данной пары до родов. В связи с этим возникает очевидный вопрос: не проще ли советовать всем женщинам, находящимся на поздних сроках беременности, воздерживаться от орально-генитальных и незащищенных половых контактов? Данный подход позволит избежать затрат на обследование и женщины, и ее партнера (ов). На практике, гораздо проще объяснить необходимость безопасного секса, чем подробно разъяснять все детали, касающиеся возможного инфицирования ВПГ-1 и ВПГ-2 женщины и ее партнера (ов). Кроме того, нельзя недооценивать психологические последствия, возможные при установлении факта серодискордантности в паре. На практике объяснение женщине всех эпидемиологических, диагностических и клинических аспектов ее заболевания занимает много времени и звучит недостаточно аргументированно для того, чтобы убедить ее в ошибочности собственных выводов или эмоциональных переживаний, возникших в результате получения информации об инфицировании самой женщины или ее партнера ВПГ-2.

С целью идентификации первичноинфицированных женщин, которые были серонегативны, следует предлагать повторное тестирование на поздних сроках беременности. В этом случае, однако, возникают следующие вопросы: следует ли проводить скрининг этих женщин и в дальнейшем, в оставшееся до родов время? Следует ли

всем делать кесарево сечение? Когда установлен риск перинатального инфицирования, как часто нужно проводить вирусологическое исследование перед родами для определения показаний для кесарева сечения.

Антенатальное тестирование не предсказывает наверняка риск инфицирования новорожденного, то есть риск вариабелен. Серопозитивным женщинам в интересах ребенка часто назначаются противовирусные препараты или проводится родоразрешение посредством кесарева сечения. В связи с этим необходима оценка риска и соотношения затрат/эффективности для оценки типоспецифического серологического скрининга беременных на ВПГ. Отсутствие эффективных диагностических методик для определения выделения вируса в момент родов уменьшает значение установленного факта инфицирования ВПГ во время беременности.

Таким образом,практические последствия введения серологического скрининга беременных и их партнеров на ВПГ должны быть оценены параллельно с прогнозируемой медицинской помощью и рассмотрением других менее затратных альтернативных подходов, таких, например, как рекомендации о безопасном сексуальном поведении во время беременности.

17/78 Типоспецифическая ВПГ-серология и корректная диагностика первого эпизода генитального герпеса во время беременности: случай из практики.

Case study: type-specific HSV serology and the correct diagnosis of first-episode genital herpes during pregnancy.

Z.A. Brown

Herpes, 2002, 9 (1): 24-26
PMID: 11916497

До появления высокочувствительных типоспецифических серологических тестов диагноз генитального герпеса ставился на основании клинических проявлений заболевания, причем считалось,что при первичной инфекции тяжесть и длительность манифестаций выражены сильнее, что и являлось критерием дифференцировки. В последнее время стала очевидной ошибочность такого диагностического подхода,что особенно актуально при ведении беременных,когда ошибочный положительный диагноз может привести к некорректному назначению химиопрепаратов,небезразличных для плода, а ошибочный отрицательный — к увеличению риска развития неонатального герпеса. Описанные ниже два клинических случая генитального герпеса во второй половине беременности иллюстрируют необходимость использования типоспецифических серологических тестов на ВПГ для постановки правильного диагноза.

Случай 1-ый: пациентка 32 лет, первая беременность,срок 30недель. За 3-4 дня до обращения почувствовала гриппоподобное недомогание с ознобом,миалгией,головной болью. Это сопровождалось выделениями из влагалища,дизурией, болями в животе,многочисленными болезненными высыпаниями на наружных половых органах и промежности. Из анамнеза пациентки известно, что проявлений герпетической инфекции ни у нее,ни у ее партнера ранее не было,однако имели место рецидивы воспалительных заболеваний гениталий, пролеченные самостоятельно вагинальными противогрибковыми препаратами. При обследовании наблюдалась клиническая картина генитального герпеса. Вирусологическое обследование и ПЦР выявили наличие ВПГ-2 в очагах поражений. При использовании вестернблота выявлены антитела к ВПГ-1 и ВПГ-2,что подтвердило диагноз реактивации генитального герпеса.

Случай 2-ой: пациентка 24 лет,срок 34 недели, вторая беременность. Во время планового визита к гинекологу пожаловалась на боль в области гениталий, возникшую неделей ранее. Она отрицала как другие возможные симптомы, так и наличие когда-либо любой генитальной патологии у нее и ее постоянного партнера. При обследовании обнаружена болезненная единичная язва в области промежности. Никаких других клинических проявлений не было. Вирусологическое обследование и ПЦР выявили наличие ВПГ-2 в очаге поражения. Исследования в вестернблоте на антитела к ВПГ-1 и ВПГ-2 дали отрицательный результат, что подтвердило диагноз первичного генитального герпеса.

Таким образом, первый случай клинически соответствует первичной инфекции с выраженной симптоматикой, однако с помощью серологического теста установлен факт первой реактивации генитального герпеса. Вполне вероятно, что предыдущие обострения протекали нераспознанными под маской других заболеваний мочеполовой сферы. А данный "первый" эпизод связан со снижением клеточного иммунитета во время беременности. Второй случай, напротив, протекал как рецидив инфекции с легкой симптоматикой. И лишь установление факта серонегативности при наличии вируса в очаге поражения позволили поставить корректный диагноз первичного генитального герпеса. Без серологического подтверждения в первом случае, вероятно,было бы проведено кесарево сечение в соответствии с руководством по ведению первичного генитального герпеса,возникшего в 3-й триместр беременности. В другом случае, наоборот, женщине позволили бы рожать самостоятельно,создав тем самым потенциальную возможность развития неонатального герпеса. Следовательно, высокочувствительные серологические типоспецифические методы выявления антител к ВПГ-1 и ВПГ-2 являются необходимыми для диагностики и выбора дальнейшей тактики ведения генитального герпеса.

18/79 Использование плазмы вместо сыворотки крови для определения типоспецифических иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 2 типа в иммуноферментном тесте, основанном на использовании гликопротеина G2.

Plasma versus serum for detection of herpes simplex virus type 2-specific immunoglobulin G antibodies with a glycoprotein G2-based enzyme immunoassay.

T.L. Cherpes, L.A. Meyn, S.L. Hillier

Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41: 2758-2759

PMID: 12791924

Целью данного исследования было изучение возможности использования образцов сыворотки крови вместо образцов плазмы для определения типоспецифических антител к ВПГ-2. В исследовании применено слепое сравнение результатов анализов, полученных путем тестирования тест-системой HerpeSelect 2 ELISA (Focus Technologies, Cypress, CA) образцов плазмы и сыворотки от молодых сексуально активных женщин. Участниками исследования явились 710 женщин в возрасте от 15 до 30 лет с воспалительными заболеваниями органов таза, зарегистрированными в профильной клинике по ИППП. Все пациентки имели гнойные цервикальные выделения, нелеченую гонококковую или хламидийную инфекцию, бактериальный вагиноз или сексуальные контакты с мужчинами, страдающими уретритами. Использовались замороженные образцы сыворотки и плазмы.

В таблице приведены сравнительные результаты анализа (табл.).

Таблица

Сравнительные результаты тестирования образцов сыворотки и плазмы

Образцы сыворотки	Образцы плазмы		
	Позитивные	Негативные	Всего
Позитивные	300	1	301
Негативные	8	401	409
Всего	308	402	710

Совпадение между двумя типами образцов (сыворотка и плазма) наблюдалось в 98,9% случаев (коэффициент корреляции Пирсона равен -0,974; $p<0,001$). Средние значения коэффициента позитивности образцов сыворотки и плазмы составили 7,55 и 7,37, соответственно. Таким образом, результаты тестирования системой Herpes Select 2 ELISA образцов плазмы и сыворотки сопоставимы между собой.

19/80 Погрешность некоторых коммерческих иммуноферментных тест-систем при диагностике генитальных инфекций, вызываемых вирусом простого герпеса 1-ого и 2-ого типов (ВПГ-1 и ВПГ-2).

Inaccuracy of certain commercial enzyme immunoassays in diagnosing genital infections with Herpes simplex virus types 1 or 2.

R.A. Morrow, D. Friedrich

American Journal of Clinical Pathology, 2003, 120: 839-844

PMID: 14671972

Целью настоящего исследования было определение чувствительности и специфичности трех коммерческих тестов, использующих в качестве диагностической мишени вирусные лизаты (Zeus Scientific, Raritan, NG; Wampole Laboratories, Cranbury, NG; DiaSorin, Stillwater, MN) и теста — на основе гликопротеинов gG-1 и gG-2 (Focus Technologies, Cypress, CA), в сравнении с вестернблотом для выявления типоспецифических антител к ВПГ-1 и ВПГ-2 в образцах сывороток.

Исследовали образцы сывороток пациентов трех групп, посещающих клиники семейной медицины при университете Вашингтона (США). Первую группу составили реконвалесценты после первичной ВПГ-1 (17 человек) или ВПГ-2 (49 человек) инфекции; образцы были взяты через 28-90 дней после появления симптомов. Пациенты из этой группы были серонегативны в первые две недели с момента появления клинических симптомов, затем у них формировался полный антительный профиль, который определялся вестернблотом. Двадцать из 49 человек с первым эпизодом генитального герпеса (ГГ), вызванного ВПГ-2, имели антитела к ВПГ-1. Вторую группу составили пациенты, у которых образцы были взяты через 6 месяцев после вирусологически подтвержденного рецидива ВПГ-1 или ВПГ-2 инфекции (30 и 49 человек, соответственно).

Таблица 1

Оценка диагностической эффективности различных ИФА тестов для диагностики ВПГ-1 и ВПГ-2 инфекции

ИФА тест	Доля (%) образцов с корректным диагнозом			
	Первичный ГГ		Рецидивирующий ГГ	
	ВПГ-1 (n=17)	ВПГ-2 (n=49)	ВПГ-1 (n=30)	ВПГ-2 (n=49)
ZEUS	19	70	42	100
Wampole	63	82	79	100
DiaSorin метод 1	88	45	100	93
DiaSorin метод 2	81	96	48	100
Focus	81	85	90	100

Вестернблот показал, что никто из ВПГ-1 инфицированных не имел антител к ВПГ-2, в то время как 31 из 49 ВПГ-2 позитивных имели также антитела к ВПГ-1. Третью группу составили пациенты с бессимптомным течением заболевания, у которых в вестернблоте были выявлены антитела к ВПГ-2, и факт инфицирования подтвержден вирусологическими методами либо ПЦР.

В исследовании использовались по два иммуноферментных теста (один на ВПГ-1 и один на ВПГ-2) от каждого из четырех производителей: DiaSorin (Stillwater, MN), Zeus Scientific (Raritan, NJ), Wampole Laboratories (Cranbury, NJ), Focus Technologies (Cypress, CA).

В таблице 1 показана доля образцов с корректным диагнозом ВПГ-1 и ВПГ-2 инфекции в каждом ИФА тесте в сравнении с результатами вирусологического исследования (66 пациентов с первичным генитальным герпесом и 79 пациентов с рецидивирующим генитальным герпесом). Чувствительность, специфичность и совпадение результатов исследования 168 образцов сывороток от пациентов всех групп в каждом ВПГ типоспецифическом ИФА тесте для выявления антител к ВПГ-1 и ВПГ-2 в сравнении с вестернблотом приведены в таблице 2.

Таблица 2

Чувствительность, специфичность и совпадение результатов различных ИФА тестов на антитела к ВПГ-1 и ВПГ-2 в сравнении с вестернблотом

ИФА тест	Чувствительность, %		Специфичность, %		Совпадение, %
	ВПГ-1	ВПГ-2	ВПГ-1	ВПГ-2	
ZEUS	77	88	53	81	56
Wampole	91	92	35	83	63
DiaSorin метод 1	94	38	70	98	54
DiaSorin метод 2	98	96	8	54	52
Focus	83	98	90	96	83

Таким образом, в данной работе тесты производителей Zeus Scientific (Raritan,NG) и Wampole Laboratories (Cranburi, NG) продемонстрировали низкую чувствительность при определении ранней ВПГ инфекции. Специфичность тестов производства Zeus Scientific, Wampole Laboratories и DiaSorin была ниже, чем теста Focus Technologies. В целом, тест Focus Technologies ELISA, использующий гликопротеин G в качестве диагностической мишени обладал большей чувствительностью и специфичностью в определении специфических анти-ВПГ-1 и анти-ВПГ-2.

ТОКСОПЛАЗМОЗ

22/83 Отсутствие практической ценности определения авидности специфических антител класса IgG в серологической диагностике реактивации токсоплазмоза у иммунокомпрометированных пациентов.

Lack of utility of specific immunoglobulin G antibody avidity for serodiagnosis of reactivated toxoplasmosis in immunocompromised patients.

B. Mechain, Y.J. Garin, F. Robert-Gangneux, J. Dupouy-Camet, F. Derouin

Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2000, 7 (4): 703-705

PMID: 10882677

Изучалась авидность IgG антител в парных и индивидуальных образцах сывороток крови 41 ВИЧ-инфицированного пациента, 18 реципиентов аллогенного костного мозга, 5 реципиентов органов (сердца — 3, легкого и печени — 1, почки и печени — 1) с клинической или серологической картиной токсоплазмоза. У иммунокомпрометированных лиц с церебральным или экстрацеребральным токсоплазмозом индекс авидности (ИА) определялся в индивидуальных образцах сыворотки в момент разгара клинических симптомов. Для 38 из 39 ВИЧ-инфицированных пациентов и реципиентов костного мозга ИА превышал 0,4 и для 35 из 39 человек — превышал 0,5. Низкоавидные антитела (ИА=0,21) наблюдались лишь у одного пациента с токсоплазмозной окулопатией с признаками недавно приобретенной инфекции, такими как наличие антител классов IgA и IgM, и положительной динамикой титра IgG. В целом, не выявлено корреляционной зависимости между ИА и титром IgG антител или между ИА и наличием антител классов IgM и IgA.

Стабильные значения ИА свидетельствуют в поддержку идеи, что большинство случаев диссеминированного и церебрального токсоплазмоза у иммунокомпрометированных лиц являются результатом реактивации латентной инфекции и указывают на вторичный иммунный ответ. Также не подтвердилась гипотеза о снижении ИА в случае токсоплазмоза, возникшего в результате пересадки донорского органа, что позволило бы использовать метод определения авидности для дифференцировки данного состояния от обычной реактивации инфекции.

23/84/Образование специфических иммуноглобулинов G, M и A в ответ на первичную инфекцию у беременных женщин, вызванную Toxoplasma gondii.

Development of specific Immunoglobulins G, M, and A following primary Toxoplasma gondii infection in pregnant women.

P.A. Jenum, B. Stray-Pedersen

Journal of Clinical Microbiology, 1998, 36 (10): 2907-2913

PMID: 9738042

В данном исследовании, являвшемся частью Национальной программы Норвегии по профилактике врожденного токсоплазмоза, изучались варианты развития иммунного ответа и продолжительность обнаружения антител разных классов к *T.gondii* у беременных женщин с первичной инфекцией. Исследовались 126 образцов сывороток от 27 беременных женщин с точно установленным сроком инфицирования.

Максимальный срок наблюдения составил 52 недели после инфицирования, и 80 образцов (63%) сывороток были собраны в течение первых 13 недель.

Все образцы были протестированы с помощью следующих методов:

* тест окрашивания (Sabin-Feldman dye test) — на наличие специфических антител к токсоплазме;
* иммуноферментный тест (ИФА) (Platelia Toxo-IgG; Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes la Coquette, Франция) — для определения специфических IgG;
* агглютинационный тест (Toxo-Screen DA IgG; bioMerieux, Marcy l'Etoile, Франция) — для определения специфических IgG;
* иммуноферментный тест (Platelia Toxo-IgM; Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes la Coquette, Франция) — для определения специфических IgM;
* тест иммуносорбентной агглютинации (Toxo-ISAGA IgM; bioMerieux) — для определения специфических IgM;
* иммуноферментный тест (Platelia Toxo-IgA; Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes la Coquette, Франция) — для определения специфических IgA.

Время после инфицирования, в течение которого достигалась максимальная концентрация антител, варьировало в зависимости от используемого метода детекции: от 2 до 21 недель в тесте окрашивания, от 4 до 36 недель — в тесте Platelia Toxo-IgG, от 4 до 30 недель — в тесте Toxo-Screen DA IgG, от 2 до 18 недель — в тесте Plate-

lia Toxo-IgM, от 1 до 6 недель — в тесте Toxo-ISAGA IgM и от 2 до 21 недель — в тесте Platelia Toxo-IgA.

На ранней стадии инфекции самыми чувствительными были тест окрашивания и тесты на специфические IgM антитела. Тест Toxo-Screen DA IgG был более чувствителен на острой стадии инфекции, чем Platelia Toxo-IgG, в то время как наименее чувствительным тестом однозначно был Platelia Toxo-IgA. Из сывороток, отобранных спустя 21-52 недели после инфекции, все были позитивны в тесте окрашивания; все, кроме одного образца (отрицательного в Platelia Toxo-IgG), были позитивны в тестах на специфические IgG антитела; приблизительно 80% были позитивны в тестах на IgM и 45% — на IgA. Из-за большой вариабельности оказалось невозможным оценить время инфицирования, основываясь на результатах анализа одной сыворотки. Результаты проведенного исследования позволили сформулировать несколько важных выводов, касающихся диагностики первичной инфекции, вызываемой *T.gondii*, во время беременности.

1. В норме специфические IgM антитела образуются рано, в течение 1 - 2 недель после первичной инфекции.
2. Всегда происходит образование IgG антител, обычно в течение 4 недель после инфекции.
3. Максимальное значение титров специфических антител обычно достигается в течение 4-8 недель, но в отдельных случаях увеличение уровня IgM антител может продолжаться в течение еще нескольких недель, а IgG антител — в течение нескольких месяцев.
4. Концентрация антител, определенная лишь в одном образце сыворотки, не позволяет определить момент инфицирования.
5. Присутствие IgM антител не является критерием свежей (недавней) инфекции.
6. Количество специфических IgM антител может снижаться до полного исчезновения в течение 3 месяцев после инфицирования.
7. Определение специфических IgA антител не является важным этапом диагностики, так как отрицательный результат не исключает, а положительный не подтверждает недавнюю первичную инфекцию T.gondii.
8. Рассматриваемый как диагностический критерий, титр не менее 300 МЕ/мл в тесте окрашивания имеет низкую чувствительность в случае недавней первичной инфекции.
9. Тест Toxo-Screen DA IgG является более чувствительным, чем Platelia Toxo-IgG.

25/86 Тяжелая форма приобретенного токсоплазмоза у иммунокомпетентных взрослых пациентов — жителей Французской Гвианы.

Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana.

B. Carme, F. Bissuel, D. Ajzenberg, R. Bouyne, C. Aznar, M. Demar, S. Bichat, D. Louvel, A.M. Bourbigot, C. Peneau, P. Neron, M.L. Darde

Journal of Clinical Microbiology, 2002, 40 (11): 4037-4044
PMID: 12409371

Французская Гвиана является французской территорией с самой высокой распространенностью ВИЧ-инфекции. Токсоплазмоз представляет серьезную проблему в этой стране из-за тяжелого течения заболевания у пациентов, болеющих СПИДом. Также токсоплазмоз является проблемой у иммунокомпетентных лиц из-за высокого риска первичного инфицирования во время беременности и, в связи с этим, риска врожденного токсоплазмоза.

Наиболее частым клиническим проявлением приобретенного токсоплазмоза у иммунокомпетентных лиц является безболезненная аденопатия шейных лимфоузлов. В редких случаях бывают острые висцеральные манифестации. В данной статье описаны 16 случаев тяжелого первичного токсоплазмоза, выявленного в больницах Французской Гвианы за период с 1995 по 2002 годы. Объектами исследования являлись иммунокомпетентные взрослые люди, госпитализированные с клиническими проявлениями неспецифического инфекционного синдрома, сопровождающимися изменениями общего статуса и висцеральными проявлениями, чаще со стороны бронхолегочной системы (14 случаев). Острый токсоплазмоз был диагностирован на основании результататов серологических тестов, предполагающих первичную недавнюю инфекцию, и отсутствия альтернативного этиологического фактора. После назначения специфического лечения быстро наступало выздоровление. Выявлено, что 13 из 16-ти пациентов за 2 недели до начала появления симптомов употребляли в пищу дичь, и, предположительно, в 8 случаях дичь была недостаточно тщательно приготовленной. У трех пациентов выделены штаммы *T.gondii*, проявившие вирулентные свойства на мышах. Дополнительный анализ показал, что все эти изоляты имели атипичный мультилокусный генотип с одним аллельным геном, характерным только для изолятов данного региона.

26/87 Усовершенствование и оценка ПЦР тест-системы для выявления токсоплазмозного энцефалита у лиц с синдромом приобретенного иммунодефицита.

Optimization and evaluation of a PCR assay for detecting toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS.

P. Joseph, M.M. Calderon, R.H. Gilman, M.L. Quispe, J. Cok, Eduardo Ticona, V. Chavez, J.A. Jimenez, M.C. Chang, M.J. Lopez, C.A. Evans

Journal of Clinical Microbiology, 2002, 40 (12): 4499-4503

PMID: 12454142

Широкое распространение ВИЧ инфекции увеличило потребность в более чувствительных и эффективных методах диагностики оппортунистических инфекций.

В настоящей статье для оптимизации ПЦР-диагностики токсоплазменой инфекции использовались образцы тканей, крови и секретов, полученных от экспериментально инфицированных *T.gondii* мышей с развившимся токсоплазмозом и от здоровых особей.

Клиническая эффективность ПЦР теста для диагностики активного церебрального токсоплазмоза оценивалась при исследовании образцов крови и спинномозговой жидкости (СМЖ) от пациентов — жителей Перу с предполагаемым церебральным токсоплазмозом и без него.

Были исследованы образцы сыворотки крови и СМЖ 68 пациентов, 12 из которых имели ВИЧ-инфекцию и подтвержденный диагноз токсоплазмозного энцефалита, 12 ВИЧ-инфицированых с подозрением на токсоплазмоз, и 26 ВИЧ-инфицированных пациентов с оппортунистическими инфекциями с неврологической симптоматикой, без подозрения на церебральный токсоплазмоз (контрольная группа). Также в исследование включены иммунокомпетентные лица (18 человек), страдающие нейроцистицеркозом.

В результате сравнительного исследования тканей двумя методами (ПЦР и гистологический) установлено, что ПЦР выявляет прогрессирующую диссеминированную инфекцию (из крови в легкие, сердце, печень и мозг) раньше, чем микроскопия, при этом отсутствуют ложноположительные результаты. Чувствительность нового ПЦР теста составила $5x10^{-14}$ гДНК, что эквивалентно количеству ДНК от 0,5 паразита.

Чувствительность исследуемого метода составила 92% (11 из 12 пациентов с подтвержденным церебральным токсоплазмозом — 6 из 9 позитивных образцов крови и 9 из 12 — СМЖ). При использовании только СМЖ или только крови чувствительность была ниже (67%). Все результаты ПЦР, за исключением образцов, полученных от пациентов с подтвержденным токсоплазмозом, были негативны, демонстрируя тем самым 100% специфичность. Положительное прогнозируемое значение составило 100% для СМЖ и крови; отрицательное прогнозируемое значение составило 97%.

Таким образом, авторы данной работы продемонстрировали, что ПЦР является диагностической методикой с относительно высокой чувствительностью при использовании образцов крови или СМЖ. Использование в качестве образцов обоих этих субстратов повышает надежность метода. В развивающихся странах (данное исследование проводилось в Перу) такие диагностические исследования, как компьютерная томография и ядерно-магнитный резонанс часто являются недоступными из-за высокой стоимости, в то время как ПЦР намного дешевле и может успешно применяться в клинической практике.

27/88 Увеличение риска дорожно-транспортных происшествий у лиц с латентным токсоплазмозом: ретроспективное наблюдение "случай — контроль".

Increased risk of traffic accidents in subjects with latent toxoplasmosis: a retrospective case-control study.

J. Flegr, J. Havlicek, P. Kodymn, M. Maly, Z. Smahel

BMC Infectious Diseases, 2002, Jul 2; 2(1):11.

PMID: 12095427

30-60% мирового населения инфицировано паразитом *Toxoplasma gondii.*

Латентный токсоплазмоз, то есть присутствие возбудителя в виде цист в нервной и мышечной тканях организма на протяжении всей жизни пациента ведет к замедлению реакций со стороны нервной системы. Данные изменения, вероятно, являются побочным эффектом присутствия *T.gondii*, или прямого патогенного влияния паразита на мозг, что может увеличивать риск различных инцидентов, например, дорожно-транспортных происшествий (ДТП). Однако пока неизвестно, имеют ли место подобные изменения, наблюдаемые в лабораторных экспериментах, в условиях реальной жизни. Если это действительно так, то распространенность токсоплазмоза у участников ДТП должна быть выше, чем в общей популяции того же региона.

В настоящей статье представлены результаты ретроспективного исследования распространенности токсоплазмоза среди лиц попавших в ДТП, по сравнению с общей популяцией в данном регионе. Использовался метод "случай — контроль".

Опытная группа сформирована из 146 человек (85 мужчин и 61 женщина) в возрасте 15-70 лет, попавших в поликлиническое хирургическое отделение городской больницы в Праге (Чехия). В исследование включены пострадавшие лица (водители и пешеходы), которые были способны своими действиями реально повлиять на вероятность возникновения ДТП. Группу контроля составили 446 человек (230 мужчин и 216 женщин).

Выборка была стандартизована по полу и возрасту. Все участники эксперимента были протестированы на наличие антител к токсоплазме с помощью реакции связывания комплемента (РСК) (коммерческая тест-система производства SEVAC, Прага), иммуноферментным методом (ИФА) для определения специфических IgG (SEVAC, Прага) и IgM (TestLine, Брно) антител. Сочетание позитивного результата РСК (титр 1:8 и выше) и отсутствие специфических IgM (индекс позитивности менее 0,9) считалось показателем латентного токсоплазмоза.

В результате исследования установлено, что распространенность токсоплазмоза среди лиц, попавших в ДТП, выше, чем в генеральной популяции ($p<0,0001$).

Кроме того, было показано, что риск возникновения дорожно-транспортных происшествий по вине пациентов с латентным токсоплазмозом в 2,65 раза выше, чем у лиц без серологических признаков токсоплазменной инфекции. Вероятность ДТП увеличивается с возрастанием титра антител к токсоплазме ($p<0,0001$): от низкого (OR=1,86) у пациентов с титром антител 1:8 и 1:16 до высокого (OR=4,78) у пациентов с титром антител 1:32 и 1:64 и очень высокого (OR=16,03) с титром антител выше 1:64.

Следовательно, лица с латентным токсоплазмозом имеют значительно более высокий риск стать жертвой ДТП, чем неинфицированные. Латентный токсоплазмоз — недооцененная форма инфекции *T.gondii*,которая может быть серьезной экономической и социальной проблемой.

28/89 Анализ внутриглазной жидкости у пациентов с токсоплазмозной окулопатией (ТО) на ранних сроках заболевания.

Early aqueous humor analysis in patients with human ocular toxoplasmosis.

J. G. Garweg, P. Jacquier, M. Boehnke

Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38 (3): 996-1001

PMID: 10698986

Токсоплазмозная окулопатия (название дано в соответствии с МКБ-10 — прим. переводчика) считается наиболее частой причиной заднего увеита у иммунокомпетентных лиц. За последние три десятилетия появилось большое число серологических тестов для подтверждения паст-инфекции *Toxoplasma gondii* путем определения иммуноглобулинов класса IgG. В соответствии с современными представлениями наличие IgM антител является критерием недавней системной или, возможно, окулярной инфекции, хотя известно, что из-за длительной персистенции антител этого класса достоверность определения специфических IgM как маркера острой инфекции невелика. У 50-80% больных ТО возможно лабораторное подтверждение диагноза при исследовании парных образцов внутриглазной жидкости и сыворотки на локально образующиеся IgG и IgA, однако,за исключением случаев недавней инфекции, IgM антитела не детектируются. На основании данных литературы и собственных исследований у авторов публикации сложилось мнение, что уровень лабораторно подтвержденной ТО возрастает как функция временного интервала (между разгаром клинических симптомов и взятием образца для анализа), который колеблется от 4 до 52 недель.

Целью данного исследования было сравнение диагностической эффективности ряда лабораторных тестов для диагностики ТО во время презентации клинических симптомов заболевания.

В исследование были включены 49 эпизодов ТО у 45 пациентов с типичной клинической картиной заболевания протяженностью не более 3 недель. Иммуноферментными методами проведена количественная оценка антител различных классов в образцах сыворотки и внутриглазной жидкости: общих IgG, специфических антитоксо-IgG, IgM, IgA. Для этого использовались коммерческие тест-системы производства Platelia Toxo; Sanofi-Diagnostics Pasteur, Marnes la Coquette, France. Также определялась авидность специфических IgG антител, присутствие возбудителя в исследуемых образцах подтверждали амплификацией фрагмента последовательности гена, кодирующего гликопротеин *B T.gondii*.

В результате исследования диагноз был подтвержден у 36 из 49 пациентов (73%). Анализ образцов сыворотки крови (определение специфических IgM антител и изучение динамики роста титра в последовательных образцах) не имел самостоятельного диагностического значения. Определение синтеза локальных антител имело недостаточную чувствительность (57%), если оно проводилось менее чем через 3 недели после манифестации клинических симптомов, чувствительность возрастала до 70% после повторного анализа образца внутриглазной жидкости. Индекс авидности антител имел диагностическое значение лишь в 8 случаях из 43 (19%), а ДНК возбудителя была выделена не более чем в 6 из 39 (16%) образцов внутриглазной жидкости. Однако специфические антитоксо-IgA антитела были обнаружены в 11 из 43 образцов (26%) внутриглазной жидкости. Таким образом, определение уровня специфических IgA антител существенно повысило диагностическую чувствительность лабораторных тестов.

29/90 Обнаружение антител классов IgG и IgM к *Toxoplasma gondii*: оценка четырех коммерческих тест-систем.

Detection of immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies to Toxoplasma gondii: evaluation of four commercial immunoassay systems.

W.T. Hofgartner, S.R. Swanzy, R.M. Bacina, J. Condon, M. Gupta, P.E. Matlock, D.L. Bergeron, J.J. Plorde, T.R. Fritsche

Journal of Clinical Microbiology, 1997, 35 (12): 3313-3315

PMID: 9399544

Проведена сравнительная оценка следующих коммерческих иммуноферментных тест-систем для определения антител к *Toxoplasma gondii:*

1) Behring Diagnostics OPUS Toxo G и Toxo M,

2) Abbott Diagnostics IMX Toxo-IgG 2.0 и Toxo IgM,

3) Sanofi Diagnostics Pasteur Platelia Toxo IgG и Toxo IgM,

4) BioMerieux Vitek VIDAS Toxo IgG и IgM.

Из 676 образцов, проверенных на специфические антитоксо-IgG с использованием указанных тест-систем, 26% были позитивны во всех исследуемых системах, в то время как в 8%случаев наблюдались расхождения результатов. Из 718 образцов, которые были протестированы на специфические антитела IgM, 3% были позитивны во всех тест- системах, расхождения результатов наблюдались в 10% случаев.

Результаты исследования образцов сывороток на IgG совпали во всех четырех тест-системах в 91,7%, а на IgM — в 89,8% случаев.

Наблюдалось высокое совпадение результатов четырех тест-систем при обнаружении антител класса IgG, и все тест-системы показали сходную чувствительность и специфичность. Таким образом, тест-системы для обнаружения антитоксо-IgG могут быть использованы клиническими лабораториями для скрининговых исследований. В отношении обнаружения антител класса IgM исследуемые тест-системы показали большую вариабельность. Показано, что наиболее чувствительный тест для обнаружения антител IgM к *Toxoplasma* — OPUS Toxo M тест, а самым специфичным оказался тест VIDAS Toxo-IgM. При оценке диагностической ценности тест-систем важно учитывать распространенность токсоплазмоза среди изучаемого населения, так как положительные результаты теста на антитела класса IgM к *T.gondii* в популяциях с низкой частотой встречаемости острой инфекции могут быть ложноположительными, а любой положительный результат обычно ведет к дополнительному обследованию пациента с возможным терапевтическим вмешательством.

31/92 Ложноположительные результаты в тесте на IgM антитела к токсоплазме и важность подтверждающего тестирования: тест Platelia Toxo IgM.

False-positive results in immunoglobulin M (IgM) *Toxoplasma* antibody tests and importance of confirmatory testing: the Platelia Toxo IgM Test.

O. Liesenfeld, C. Press, J.G. Montoya, R. Gill, J.L. Isaac-Renton, K. Hedman, J.S. Remington

Journal of Clinical Microbiology, 1997, 35 (1): 174-178

PMID: 8968902

Проведено серологическое исследование на антитела к токсоплазме в образцах сывороток, полученных во время вспышки токсоплазмоза в Канаде (Capital Regional District of British Columbia, Канада). Результаты, полученные при использовании Platelia Toxo IgM (Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes la Coquette, Франция) были сравнены с результатами, референсного теста (Palo Alto Lab) для определения специфических IgM (IgM ELISA). Все образцы, имевшие дискордантные результаты при исследовании двумя тестами, были дополнительно изучены различными методами (тест окрашивания Сэбина-Фелдмана, иммуноферментные тесты для определения специфических IgM, IgA и IgE , тест иммуносорбентной агглютинации (ISAGA) для определения IgE , тест дифференциальной агглютинации (AS/HS) и тест для определения авидности IgG).

Исследовали 575 образцов сывороток от 475 человек. В группу обследуемых были включены лица с острым токсоплазмозом (14,9%), члены их семей (4,0%), беременные женщины (45,5%) и другие (35,6%).

Из 575 образцов сывороток 326 (56,7%) имели положительный результат в тесте Platelia Toxo IgM и 175 (30,4%) — в тесте IgM ELISA. Из 326 образцов сыворотки, положительных в тесте Platelia Toxo IgM, 165 (50,6%) были положительными и 153 (46,9%) были отрицательными в IgM ELISA. По сравнению с референсным тестом, тест Platelia Toxo IgM имел чувствительность 99,4%, специфичность — 49,2%, позитивное прогнозируемое значение — 51,9%, негативное прогнозируемое значение — 99,3%, сходимость результатов составила — 67,0%.

Из 153 неопределенных образцов, положительных в тесте Platelia Toxo IgM и отрицательных в IgM ELISA, 64 (41,8%) были исследованы в тесте на авидность IgG. Из 64 протестированных образцов сывороток 5 (7,8%) имели низкоавидные IgG антитела, что свидетельствовало о недавно приобретенной инфекции. Сорок девять образцов (76,6%) содержали высокоавидные IgG.

Полученные результаты свидетельствуют о высоком числе возможных ложноположительных результатов при использовании Platelia Toxo IgM и подчеркивают необходимость тщательной срав-

нительной оценки коммерческих тестов и использования подтверждающих тестов для корректной диагностики недавней токсоплазменной инфекции.

32/93 Замедленное "созревание" (увеличение авидности) IgG антител при врожденном токсоплазмозе.

Delayed maturation of IgG avidity in congenital toxoplasmosis.

W. Buffolano, M. Lappapainen, L. Hedman, F. Ciccimarra, M. Del Pezzo, R. Rescaldani, N. Garrano, K. Hedman

European Journal of Microbiological Infectious Diseases, 2004, 23: 825-830

PMID: 15558340

Приблизительно 87% детей с врожденным токсоплазмозом (ВТ) при рождении не имеют симптомов болезни, которые развиваются у них впоследствии в детском или подростковом возрасте. Трансплацентарная передача инфекции от матери ребенку происходит в 10-80% случаев в зависимости от срока беременности и проводимого пренатального лечения. При увеличении срока беременности увеличивается риск инфицирования, но снижается риск развития серьезных осложнений у плода. Сероконверсия, то есть появление в сыворотке антител различных классов (IgG, IgA, IgM) к возбудителю, позволяет однозначно диагностировать первичную инфекцию во время беременности. Однако диагностическая ценность детекции специфических антител у ребенка при рождении ограничена присутствием у него материнских IgG антител и несовершенной чувствительностью тестов на IgM и IgA антитела. Измерение авидности IgG антител является важным для определения времени возникновения инфекции у матери. Однако гораздо меньше известно о ценности данного метода при диагностике ВТ. В настоящем исследовании проведено изучение кинетики созревания и, как следствие, повышения авидности IgG антител у инфицированных и неинфицированных детей, рожденных от матерей с доказанным фактом первичного инфицирования во время беременности.

Были обследованы 52 ребенка, наблюдавшихся в Региональном Центре перинатальной инфекции (южная Италия). Постнатальный диагноз ВТ устанавливался на основании обнаружения специфических IgM и IgA антител в первые 3 месяца жизни и специфических IgG антител при рождении и на 1, 2, 6, 9 и 12 месяцах жизни. Диагноз считался доказанным при обнаружении IgG антител через 12 месяцев после рождения. Тридцати двум из 52 новорожденных был поставлен диагноз ВТ в соответствии с этими критериями. Определение антител осуществлялось с помощью коммерческих тест-систем ELFA IgM и IgG, ISAGA IgM (bioMerieux; Marcy l'Etoile, Франция) и Platelia IgA (Sanofi Pasteur, Париж, Франция). Определение авидности IgG антител производилось с помощью коммерческой тест-системы производства Thermo-Labsystems (Хельсинки, Финляндия).

При сравнительном исследовании авидности антител в парных сыворотках (матерей и их детей), взятых в первые 3 недели после родов, выявлено, что значения авидности в парах с ВТ в среднем составили 9,4% (от 2,8% до 22,7%) у детей и 11,5% (от 2,2% до 29%) у их матерей. В группе без ВТ эти результаты составили в среднем соответственно 19,2% (от 3% до 44%) и 20,5% (от 2,9% до 46%). В целом, средние значения авидности в перинатальный период в парах с ВТ были значительно ниже, чем в парах без ВТ ($p<0,001$, OR=2,85). Все новорожденные с ВТ имели низкие или пограничные значения авидности (у 84% детей ИА был менее 15%). Напротив, значительная доля детей без ВТ имела высокоавидные антитела (ИА>30%). При индивидуальном анализе все неинфицированные новорожденные продемонстрировали значения индексов авидности близкие к материнским. Показатели индексов авидности различались у 5 (20%) инфицированных младенцев и их матерей: в 4-х случаях ИА антител у детей был ниже, чем у матерей и в 1-ом случае — выше.

При изучении изменений авидности IgG антител при ВТ были исследованы 292 образца сывороток от 32 инфицированных детей. Сыворотки были собраны в течение 76 месяцев после рождения. В качестве группы контроля проанализированы 78 образцов сывороток от 20 неинфицированных детей. Выявлено, что у всех детей с ВТ происходило значительное увеличение авидности IgG антител в период от 6 до 24 месяцев, независимо от концентрации самих антител. Высокоавидные антитела (ИА>30%) через 6 месяцев обнаружены лишь у 6,3% детей, через 12 месяцев — у 62,5% и после первого года жизни — у 94% детей. Лишь у двух человек низкоавидные антитела обнаруживались после 24 месяцев жизни. У неинфицированных детей изменений авидности IgG антител не происходило.

Значения ИА оставались стабильными на протяжении всего периода исследования независимо от концентрации IgG антител (от 4 до 200 МЕ/мл).

Основные результаты исследования, можно сформулировать следующим образом:

1) у всех новорожденных с ВТ обнаружены низкие или пограничные значения авидности;

2) у детей с ВТ значения авидности со временем увеличиваются, достигая максимума к 2 годам, оставаясь далее на стабильном уровне.

Заслуживает интереса еще один факт: период созревания IgG антител у новорожденных при ВТ составляет 2 года, в то время, как известно, что у взрослых пациентов эта фаза длится в основном от 3 до 6 месяцев после первичного инфицирования. Замедленная кинетика созревания антител может быть общей характеристикой врожденных инфекций. Отмечается, что у детей с врожденной краснухой, как правило, наблюдают-

ся низкоавидные антитела на протяжении всего детского возраста.

4. ИНФОРМАЦИЯ О ПАТЕНТАХ

1. Получен патент на изобретение № 2253870 "Рекомбинантные белки, содержащие диагностически значимые эпитопы белков коронавируса (SARS-CoV), связанного с острым респираторным синдромом, и последовательности синтетических генов, кодирующих диагностически значимые антигенные детерминанты белков коронавируса (SARS-CoV), связанного с тяжелым острым респираторным синдромом.

Патентообладатель:	Авторы:	Зарегистрирован
ООО "НПО "Диагностические системы" (RU)	Бурков А.Н., Уланова Т.И., Обрядина А.П., Пузырев В.Ф.	в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 10 июня 2005г.

2. Получен патент на изобретение №2262703 "Способ получения контрольных образцов, используемых в иммуноферментном анализе"

Патентообладатель:	Авторы:	Зарегистрирован
ООО НПО "Диагностические системы" (RU)	Бурков А.Н., Обрядина А.П., Уланова Т.И., Гладышева М.В.	в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 20 октября 2005г.

3 Получен патент на изобретение № 2262704 "Набор антигенов для определения антител к вирусу гепатита С "ДС-HCV-АНТИГЕНЫ"

Патентообладатель:	Авторы:	Зарегистрирован
ООО НПО "Диагностические системы" (RU)	Бурков А.Н., Уланова Т.И., Обрядина А.П., Пузырев В.Ф.	в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 20 октября 2005г.

5. План семинаров ООО "НПО "Диагностические системы" в I квартале 2006г.

№	Дата	Место проведения	Темы лекций
	22-23 февраля	г.Черкесск	Диагностика ToRCH-инфекций — новые возможности. Иммуноферментная диагностика вирусных гепатитов; тест-системы для диагностики.
	февраль - март	г.Пермь	Авидность антител в диагностике инфекционных заболеваний Диагностика ToRCH-инфекций — новые возможности. Иммуноферментная диагностика вирусных гепатитов; тест-системы для диагностики. Диагностика хламидиозов. Система внешнего и внутреннего контроля качества лабораторных исследований.
	16-17 марта	г.Москва МОНИКИ	Причины расхождений в результатах лабораторных исследований при использовании тест-систем различных производителей. Внутрилабораторный контроль качества лабораторных исследований. Алгоритм лабораторной диагностики вирусного гепатита С Диагностика ToRCH-инфекций — новые возможности. Требования к качеству исследуемого клинического материала.
	22-23 марта	г.Орел	Современное состояние и проблемы диагностики ВИЧ-инфекции. Иммуноферментная диагностика вирусных гепатитов; тест-системы для диагностики. Современные методы лабораторной диагностики сифилиса. Диагностика ToRCH-инфекций — новые возможности. Система внешнего и внутреннего контроля качества лабораторных исследований
	23-24 марта	г.Тюмень	Современные методы лабораторной диагностики сифилиса.