

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»

О.В. Панкратов, А.А. Шилова

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА

Минск, БелМАПО
2022

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»

О.В. Панкратов, А.А. Шилова

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА

Учебно-методическое пособие

Рекомендовано учебно-методическим объединением
в сфере дополнительного образования взрослых
по профилю образования «Здравоохранение»

Минск, БелМАПО
2022

УДК 616.972-074(075.9)

ББК 55.81я78

П 16

Рекомендовано в качестве учебно-методического пособия
НМС Государственного учреждения образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
протокол № 9 от 03.11.2022

Авторы:

Панкратов О.В., заведующий кафедрой дерматовенерологии и косметологии
БелМАПО, доктор медицинских наук, профессор

Шилова А.А., старший преподаватель кафедры дерматовенерологии и
косметологии БелМАПО, кандидат медицинских наук

Рецензенты:

Музыченко А.П., заведующий кафедрой кожных и венерических болезней
УО «Белорусский государственный медицинский университет», кандидат
медицинских наук, доцент

Коваленко Е.В., главный врач УЗ «Минский городской клинический центр
дерматовенерологии»

Панкратов О. В.

П 16 Лабораторная диагностика сифилиса: учеб.-метод. пособие /
О.В. Панкратов, А. А. Шилова - Минск : БелМАПО, 2022. – 65 с.

ISBN 978-985-584-785-5

В учебно-методическом пособии изложены современные сведения о
возможностях, методах и методиках лабораторной диагностики сифилиса.
Представлены порядок обследования пациентов на сифилитическую
инфекцию при обращении за медицинской помощью, лабораторные критерии
диагноза, некоторые методические, технологические и организационные
аспекты диагностики сифилиса, требования к отбору, транспортировке и
хранению первичных проб при обследовании пациентов на сифилитическую
инфекцию, а также возможные сочетания результатов серологических тестов
на сифилис и интерпретация их результатов.

Учебно-методическое пособие предназначено для слушателей,
осваивающих содержание образовательных программ переподготовки по
специальности «Дерматовенерология» (дисциплина «Сифилис и
дерматовенерологические аспекты ВИЧ-инфекции»), повышения
квалификации врачей-дерматовенерологов, врачей-акушеров-гинекологов,
врачей-урологов.

УДК 616.972-074(075.9)

ББК 55.81я78

ISBN 978-985-584-785-5

© Панкратов О.В., Шилова А.А., 2022

© Оформление БелМАПО, 2022

ВВЕДЕНИЕ

Сифилис – это хроническое инфекционное заболевание, передающееся преимущественно половым путем, характеризующееся волнообразным течением и системным поражением организма человека [2].

В конце двадцатого века на территории стран Восточной Европы, включая Беларусь, разыгралась серьезная эпидемия сифилиса. В Республике Беларусь с 1989 г. наблюдался рост заболеваемости сифилисом. До 1991 года он был постепенным, а с 1992 г. стал носить геометрический характер, достигнув максимума в 1996 г. – 209,7 случаев на 100 тысяч населения или 21616 выявленных больных. По сравнению с 1988 г. заболеваемость сифилисом в 1996 г. выросла в 152 раза. В период с 1993 по 2002 год сифилисом переболело более 1% населения Республики Беларусь. С 1997 г. заболеваемость сифилисом прогрессивно снижалась, и в 2019 г. было выявлено 405 больных (4,3 случая на 100 тысяч населения). Однако в 2020 и 2021 годах зарегистрировано увеличение числа выявленных случаев сифилиса и заболеваемости: 763 и 1043 больных, 8,1 и 11,1 случая на 100 тысяч населения соответственно. При этом в последние годы существенно изменилась структура заболеваемости сифилисом в нашей стране: более 80% составили скрытые формы и более 60% – поздние формы заболевания

На территории Республики Беларусь лабораторная диагностика сифилитической инфекции осуществляется в Республиканской референс-лаборатории по диагностике сифилиса (далее – РРЛ по диагностике сифилиса), в клинико-диагностических и серологических лабораториях государственных и негосударственных организаций, осуществляющих медицинскую деятельность в порядке, установленном законодательством.

Актуальность лабораторной диагностики сифилиса обусловлена распространённостью, широким многообразием клинических проявлений, преобладанием в настоящее время скрытых и поздних форм, серьезным прогнозом заболевания, социальной опасностью данной патологии.

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА

Открытие возбудителя сифилиса не было простой и легко достижимой задачей. Длительное ошибочное представление о тождественности сифилиса, мягкого шанкра и гонорей только направляло исследователей по неверному пути. В 1879 году венеролог А. Neisser открыл возбудителя гонорей – гонококк. В 1885 году итальянец Ferrari обнаружил в отделяемом язвенного мягкого шанкра изолированные палочки, этиологическое значение которых учёный доказать не смог. В 1887 году профессор Петербургского университета О.В. Петерсен сообщил об открытии им возбудителя мягкого шанкра – стрептобациллы, что в дальнейшем было подтверждено как зарубежными (Ducrey, 1889; Unna, 1892; Krefling, 1892), так и отечественными исследователями (С.С. Истаманов, А.И. Акопянц) [2].

Однако активные поиски возбудителя сифилиса долгое время были неэффективными. Ossler довольно точно отметил, что «история поисков возбудителя сифилиса подобна повести об обманутых надеждах». Так, Lassar к 1905 г. подсчитал, что за 25 лет было «открыто» 125 возбудителей сифилиса. Многие учёные, безусловно, способствовали достижению цели. В 1903 году И.И. Мечников и Roux провели ряд удачных экспериментов по заражению сифилисом шимпанзе, доказав, что сифилис у обезьян возникает и протекает тождественно сифилису человека. В 1904 году Д.К. Заболотный заразил экспериментальным сифилисом другую человекообразную обезьяну – павиана. Наконец, в 1905 году F.R. Schaudinn и P.E. Hoffmann, предложив в качестве метода прямой детекции возбудителя модификацию окраски по Гимза, обнаружили бледную спирохету (*Spirochaeta pallida*, в дальнейшем – *Treponema pallidum*), которая вскоре была признана как истинный возбудитель сифилиса [2, 3].

Основными успехами в развитии лабораторной диагностики сифилиса можно назвать:

- 1906 г. - А. Wassermann, А. Neisser, С. Bruck предложили реакцию связывания комплемента (РСК) для диагностики сифилиса;
- 1922 г. - R. Kahn предложил осадочную реакцию;
- 1949 г. - R. Nelson и M. Mayer предложили реакцию иммобилизации бледных трепонем (РИБТ);
- 1954-1957 гг. - W. Deacon et al.; Weller и Coons предложили реакцию иммунофлюоресценции (РИФ);
- 1971-1972 гг. - E. Engval et al.; А. Dasgupta предложили иммуноферментный анализ (ИФА) как метод;

– 1985 г. – Farshy C.E., Hunter E.F. et al. – ИФА на антитела класса IgG при сифилисе.

Основные вехи развития учения о сифилисе представлены в таблице 1.

Таблица 1 – История изучения сифилиса [2]

| Год | Метод | Авторы |
|-----------|---|--------------------------|
| ~1495 | Первая описанная эпидемия сифилиса в Европе | ? |
| 1496 | Первое визуальное представление сифилиса | Durer A. (?) |
| 1498 | Первая медицинская иллюстрация сифилиса | ? |
| 1499 | Первое достоверное упоминание о появлении сифилиса в России | Письмо Иоанна III |
| 1530 | Предложен термин «сифилис» | Fracastoro G. |
| 1786 | Неудачная попытка изучения тождественности сифилиса и гонореи | Hunter J. |
| 1831-1837 | Доказательство отличия сифилиса и гонореи | Ricord |
| 1836 | Открытие возбудителя трихомоноза | Donne A.F. |
| 1836 | Применение препаратов йода в лечении сифилиса | Wallace |
| 1852 | Доказательство отличия сифилиса и мягкого шанкра | Bassereau |
| 1879 | Открытие возбудителя гонореи | Neisser A. |
| 1887 | Открытие возбудителя мягкого шанкра | Петерсен O.B. |
| 1903 | Предложена плацентарная теория врожденного сифилиса | Matzenauer R. |
| 1903 | Эксперименты по заражению сифилисом шимпанзе | Мечников И.И., Roux |
| 1905 | Открытие возбудителя сифилиса – модификация окраски по Гимза для выявления <i>Spirochaeta pallida</i> (<i>Treponema pallidum</i>) | Shaudinn F., Hoffmann P. |
| 1906 | Реакция связывания комплемента с экстрактом печени новорожденных с врожденным сифилисом | Wassermann A. et al. |
| 1906 | Заражение сифилисом кролика в переднюю камеру глаза | Bartarelli |
| 1907 | Заражение сифилисом кролика в яичко (RIT – Rabbit Infectivity Test) | Parodi U. |
| 1909 | Микроскопическое исследование нативных препаратов в темном поле | Coles A.C. |

| | | |
|-----------|---|----------------------------|
| 1909 | Синтезирован противосифилитический препарат сальварсан | Erlich P., Hata |
| 1912 | Доказательство сифилитической природы прогрессивного паралича и спинной сухотки | Noguchi, Moore |
| 1912-1913 | Синтезирован противосифилитический препарат неосальварсан | Erlich P., Hata |
| 1917 | Лихорадочная терапия больных с прогрессивным параличом (прививки малярии) | Wagner-Jaureg J. |
| 1921 | Применение препаратов висмута – бисмоверола и бийохинола – в лечении сифилиса | Sazerac R., Levaditi C. |
| 1943 | Применение пенициллина в лечении сифилиса | Mahoney, Arnold, Harris |
| 1951 | Синтезирован бензатин бензилпенициллин | Scabo, Edwards, Brace |

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА

Для лабораторной диагностики сифилиса применяются прямые и непрямые методы [1].

Прямые методы диагностики выявляют самого возбудителя или его генетический материал.

Абсолютным доказательством наличия у пациента заболевания является обнаружение *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) в образцах, полученных из очагов поражений, при микроскопическом исследовании в темном поле зрения и/или иммуногистохимическом исследовании с использованием моноклональных или поликлональных антител.

Прямые методы используются для диагностики ранних форм заболевания (первичный и вторичный сифилис) с клиническими проявлениями (эрозивно-язвенные элементы), а также для подтверждения врожденного сифилиса (ткань пуповины, плаценты, органы плода, отделяемое слизистой оболочки носа, содержимое пузырей, отделяемое с поверхности папул).

Непрямые (серологические) методы диагностики сифилиса позволяют выявить антитела к возбудителю сифилиса в сыворотке крови и ликворе и делятся на две группы:

1. *Нетрепонемные тесты (НТТ):*

– тест быстрых плазменных реагинов (Rapid Plasma Reagins) (далее – RPR);

– тест Исследовательской лаборатории венерических заболеваний (Venereal Disease Research Laboratory test) (далее – VDRL).

Общая характеристика НТТ:

– применяется антиген нетрепонемного происхождения (стандартизованный кардиолипидный антиген);

– позитивируются через 1–2 недели после образования первичной сифиломы;

– обладают невысокой чувствительностью (до 70-90% при ранних формах сифилиса и до 30% – при поздних), могут давать ложноположительные результаты (3 % и более).

Показания к применению НТТ в Республике Беларусь в настоящее время:

– определение активности течения инфекции (определение титров антител);

– контроль эффективности терапии (определение титров антител).

2. Трепонемные тесты (ТТ):

– иммуноферментный анализ (далее – ИФА). Чувствительность при первичном и вторичном сифилисе – 98–100 %, специфичность – 96–100 %. Дает возможность дифференцированного и суммарного определения IgM и IgG антител к возбудителю сифилиса;

– реакция пассивной гемагглютинации (далее – РПГА). Чувствительность метода при первичном сифилисе – 76%, при вторичном – 100%, при скрытом – 94–97%, специфичность – 98–100%;

– реакция иммунофлюоресценции / непрямой иммунофлюоресценции (далее РИФ / РНИФ), в том числе в модификациях РИФ-абс, РИФ-200, РИФ-ц. Чувствительность при первичном сифилисе – 70–100%, при вторичном и позднем – 96–100%, специфичность – 94–100%;

– иммуноблоттинг (исследование проводится на базе РРЛ по диагностике сифилиса на бюджетной основе, по направлениям от учреждений здравоохранения Республики Беларусь. Применяется для подтверждения диагноза при сомнительных или противоречивых результатах других ТТ, а также для диагностики раннего и позднего врожденного сифилиса). Является модификацией ИФА. Чувствительность и специфичность – 98–100 %.

Общая характеристика ТТ:

– применяется антиген трепонемного происхождения;
– чувствительность – 70–100% (зависит от вида теста и стадии болезни); специфичность – 94–100%;

– РИФ, ИФА, иммуноблоттинг становятся положительными с 3-й недели от момента заражения и ранее, РПГА – с 7–8-й.

Показания к применению ТТ в Республике Беларусь в настоящее время:

- скрининг населения на сифилис (ИФА на антитела к *T. pallidum*);
- подтверждение положительных результатов скрининга (РИФ, РПГА);
- подтверждение диагноза в случае расхождения результатов скринингового ТТ и последующего НТТ, а также скринингового и подтверждающего ТТ.

ТТ не могут быть использованы для контроля эффективности терапии, т.к. антитрепонемные антитела длительно циркулируют в организме пациента, перенесшего сифилитическую инфекцию.

ТТ дают положительные результаты при невенерических трепонематозах и спирохетозах.

ТТ могут давать ложноположительные реакции у больных с аутоиммунными заболеваниями, лепрой, онкологическими заболеваниями, эндокринной патологией и при некоторых других заболеваниях.

Материалами для исследования на сифилис являются сыворотка крови, спинномозговая жидкость.

ОБСЛЕДОВАНИЕ ПАЦИЕНТОВ НА СИФИЛИТИЧЕСКУЮ ИНФЕКЦИЮ ПРИ ОБРАЩЕНИИ ЗА МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩЬЮ. ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОЗА

Диагностический алгоритм сифилитической инфекции с использованием серологических тестов в Республике Беларусь:

Скрининг населения на сифилис (ИФА на суммарные антитела к *T. pallidum*).

При положительном результате скрининга: параллельное исследование НТ (RPR или VDRL) и другими ТТ (РПГА, РИФ-абс, РИФ-200).

Для обязательного клинико-лабораторного обследования на сифилитическую инфекцию в зависимости от клинической ситуации и контингентов, подлежащих обследованию, используются НТТ и ТТ в соответствии Перечнем медицинских показаний для обязательного клинико-лабораторного обследования на сифилитическую инфекцию при обращении за медицинской помощью (*Приложение 1*) [1].

Клинический диагноз раннего сифилиса подтверждается обнаружением *Treponema pallidum* в нативном препарате (при первичном сифилисе) и/или положительными результатами одного ТТ и одного НТТ. Пациент подлежит лечению в соответствии с клиническим диагнозом раннего сифилиса.

Клинический диагноз позднего сифилиса подтверждается положительными результатами не менее чем в двух ТТ. Пациент подлежит лечению в соответствии с клиническим диагнозом позднего сифилиса.

При отрицательном результате скрининга пациент не подлежит дальнейшему серологическому обследованию на сифилис. Лечение не проводится.

Чувствительность и специфичность ТТ (ИФА, РПГА, РИФ) для диагностики сифилиса должна быть не менее 98,0%.

С целью профилактики вертикальной передачи сифилиса от матери ребенку, своевременной диагностики и лечения беременных должно проводиться обследование на сифилис (НТТ (RPR или VDRL) и ТТ (ИФА или РПГА)): при 1-ой явке, в сроке 28–30 недель беременности, а также при поступлении в роддом

Клинический диагноз нейросифилиса подтверждается положительными результатами не менее чем двух ТТ со спинномозговой жидкостью; результатами комплексной оценки изменений ликвора, с определением степени выраженности показателей воспалительного компонента: морфологический состав (количественный и качественный

цитоз), биохимические показатели (общий белок, глобулины/альбумины), расчетные индексы и коэффициенты (альбуминовый коэффициент; IgG-коэффициент; IgG-индекс; РПГА-индекс), а также степени выраженности специфического компонента (нетрепонемный и трепонемный тесты).

Диагноз нейросифилиса не может быть установлен без исследования ликвора.

У пациентов с сифилисом выделяют абсолютные и относительные показания для диагностического исследования ликвора.

Абсолютные показания для диагностического исследования ликвора:

– клиничко-неврологическая очаговая симптоматика и микросимптоматика;

– расстройства психической сферы; пациенты с несостоятельностью проведенной этиотропной терапии (клинический рецидив, серологический рецидив);

– сифилис у пациентов с вирусом иммунодефицита человека (далее – ВИЧ-инфекция) или синдромом приобретенного иммунного дефицита (далее – СПИД);

– снятие пациента с клиничко-серологического наблюдения по нейросифилису.

Относительные показания для диагностического исследования ликвора:

– злокачественное течение манифестных форм сифилиса (алопеция, лейкодерма, пустулезный сифилид);

– поздние формы сифилиса;

– дети, рожденные от матерей, не получавших лечения по поводу сифилиса во время беременности.

Противопоказаниями для исследования ликвора являются:

– клинические и инструментальные (КТ, МРТ) признаки отека головного мозга;

– застойные диски зрительных нервов;

– дислокационный синдром;

– объемные процессы головного мозга (опухоли, гуммы, абсцесс, субдуральная гематома);

– острые инфекционные заболевания (ОРВИ, ангина и др.);

– инфекция мягких тканей в месте предполагаемой пункции;

– выраженная тромбоцитопения (менее 40000/мкл) или снижение времени свертывания крови более чем на 50%.

Плеоцитоз и повышение уровня белка в ликворе не являются специфичными для нейросифилиса, но имеют важное диагностическое

значение как критерии развития воспалительных процессов в оболочках вещества мозга. Определение в 1 мм³ ликвора свыше 5 клеток лимфоцитарного ряда свидетельствует о наличии патологических изменений в нервной системе.

Содержание белка в ликворе взрослого человека в норме составляет 0,16–0,45 г/л.

Специфичность НТТ с ликвором близка к 100%, однако их чувствительность недостаточно высока, а частота отрицательных результатов при различных формах нейросифилиса варьирует от 30 до 70%. ТТ обладают высокой чувствительностью (90-100 %), но недостаточно специфичны и могут быть положительными с ликвором при формах сифилиса, не сопровождающихся поражением нервной системы. Отрицательные результаты ТТ с ликвором исключают нейросифилис.

Для диагностики нейросифилиса используется алгоритм, включающий последовательное применение методов лабораторной диагностики: ИФА, RPR/VDRL и РПГА.

Спинальная жидкость исследуется в день доставки ТТ (ИФА, РПГА, РИФ-ц) и НТТ (RPR/VDRL).

Тестированию подлежат лица с подозрением на наличие нейросифилиса, в том числе пациенты со скрытым сифилисом и лица, в прошлом перенесшие сифилис с сохраняющимися положительными результатами серологических реакций крови на сифилис. Тестирование ликвора следует начинать с ИФА. В случае отрицательного результата может быть сделан вывод об отсутствии у пациента нейросифилиса. В случае положительного результата ИФА проводится исследование с помощью одного из НТТ (RPR/VDRL).

В случае положительного результата ИФА и RPR/VDRL пациенту устанавливают диагноз нейросифилиса и дальнейшее тестирование прекращают.

В случае отрицательного результата RPR/VDRL проводится тестирование ликвора с помощью второго высокочувствительного и специфичного трепонемного теста – РПГА. В случае положительного результата РПГА делают вывод о наличии у пациента нейросифилиса. В случае отрицательного результата РПГА делают вывод об отсутствии у пациента нейросифилиса и ложноположительном результате первого ТТ.

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА

Если в инструкции по применению не введено понятие «серой зоны», то рекомендуется учитывать возможное влияние ошибок дозирования пипеткой (5%) и измерение оптической плотности спектрофотометр (5%). Таким образом, сыворотки, оптическая плотность (далее – ОП) которых после постановки ИФА отличается не более чем на 10% от ОП критического, следует признать неопределенными.

Пробы с положительным и неопределенным результатами ИФА повторно тестируются не менее чем в 2-х лунках планшета независимо от инструкции производителя, предпочтительнее – на тест-системе другого производителя, а также проводится параллельное с ИФА исследование НТТ (RPR/VDRL) в качественном и количественном вариантах. Далее пациенты консультируются врачом-дерматовенерологом для решения вопроса о проведении углубленного обследования с использованием специфического подтверждающего ТТ (РПГА, РИФ-абс, РИФ-200).

Сведения о положительных результатах вносятся в «сигнальный журнал») и подаются в опергруппу под роспись.

Учет результатов реакций, проводимых для диагностики сифилиса, осуществляет врач. При неукомплектованности центральных районных больниц (далее ЦРБ) врачом лабораторной диагностики исследования на сифилис согласно Постановлению Министерства здравоохранения Республики, Беларусь от 19 февраля 2008 г. № 38 проводит и учитывает фельдшер-лаборант, прошедший стажировку на рабочем месте не менее 5 рабочих дней в централизованных серологических лабораториях.

Все положительные пробы подлежат хранению. Хранятся сыворотки крови в холодильнике при температуре +2-8°C не более 7 суток. Замораживание при температуре –20°C позволяет хранить образцы в течение 1 месяца, при температуре –70°C срок хранения не лимитируется. Не допускается оттаивание и повторное замораживание образцов сыворотки крови. При необходимости хранения сыворотки крови в течение более длительного срока проводят замораживание сыворотки при разделении ее на несколько дублирующих аликвот по 0,5-1 мл в пробирки типа «Эппендорф». Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания ее в обязательном порядке несколько раз перемешивают до начала исследования.

При выявлении положительных результатов скрининговых серологических тестов у пациентов с клинической картиной парезов, параличей, эпилептиформных припадков, невритов и других признаков

поражений нервной системы, врачом-дерматовенерологом проводится консультация для назначения специфического обследования и лечения по его результатам. Пациентам определяется лечение стационарно в специализированных отделениях неврологического / психиатрического / дерматовенерологического профиля. При проведении лечения стационарно в условиях специализированных отделений неврологического (психиатрического) профиля лечение пациента осуществляет врач-невролог (врач-психиатр), консультирует врач-дерматовенеролог.

До этапа транспортировки материал должен быть сортирован в зависимости от планируемого метода (сочетания методов), которыми должно быть проведено исследование. При доставке проб в лаборатории на каждую группу методов исследования должна заполняться отдельная ведомость ф. №201/у-07 и направление ф. №222/у-07.

Ответственность за забор, назначение методов исследования, сортировку биоматериала, заполнение направлений и общих ведомостей, доставку биоматериала в лаборатории возлагается на направляющее учреждение.

Централизованные лаборатории должны осуществлять мониторинг организаций здравоохранения и организаций, осуществляющих забор биоматериала для диагностики сифилиса, а также организаций здравоохранения и организаций, осуществляющих диагностику сифилиса.

Централизованные серологические лаборатории (или врачи лабораторной диагностики, ответственные за работу по контролю качества в области диагностики сифилиса должны осуществлять внешний контроль качества всех применяемых серологических реакций в лабораториях организаций здравоохранения и организаций, осуществляющих диагностику сифилиса. Внешний контроль качества серологических исследований осуществляется в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 10 сентября 2009 г. № 873.

Стажировка специалистов по серодиагностике сифилиса должна осуществляться в централизованных серологических лабораториях областных и городских кожно-венерологических диспансеров не менее 5 рабочих дней.

На базе РРЛ по диагностике сифилиса проводятся арбитражные исследования для учреждений и организаций здравоохранения Республики Беларусь, как правило, с последующим консультированием результатов специалистом Республиканского центра дерматовенерологии.

ОТБОР, ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ ПРОБ ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ ПАЦИЕНТОВ НА СИФИЛИТИЧЕСКУЮ ИНФЕКЦИЮ

Отбор, транспортировка и хранение первичной пробы серозного отделяемого с поверхности эрозий, язв, мацерированных, эрозированных, изъязвленных папул, пустул проводится согласно приложению 2 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 2).

Таблица 2 – Отбор первичной пробы серозного отделяемого с поверхности эрозий, язв, мацерированных, эрозированных, изъязвленных папул, пустул

| | |
|--|---|
| Наименование процедуры | Отбор первичной пробы серозного отделяемого с поверхности эрозий, язв, мацерированных, эрозированных, изъязвленных папул, пустул. |
| Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры) | Специалист, имеющий высшее медицинское образование по специальностям: 1-79 01 01 «Лечебное дело», 1-79 01 02 «Педиатрия», 1-79 01 03 «Медико-профилактическое дело», 1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело». |
| Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала | В соответствии с требованиями нормативных документов. |
| Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения, необходимые для процедуры | <ol style="list-style-type: none"> 1. Стерильные марлевые салфетки. 2. Медицинские перчатки. 3. Ложки Фолькмана. 4. Пинцет. 5. Лоток. 6. Предметные стекла. 7. Покровные стекла. 8. Бактериологическая петля. |

| | |
|--------------------------------------|--|
| | <p>9. Стерильный физиологический раствор.</p> <p>10. Маркер.</p> <p>11. Манипуляционный столик.</p> <p>12. Кушетка, гинекологическое кресло.</p> <p>13. Одноразовый гинекологический набор.</p> <p>14. Антисептики, разрешенные к применению Министерством здравоохранения.</p> |
| <p>Методика выполнения процедуры</p> | <p>I. Подготовка к процедуре</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента информированного согласия на предстоящую процедуру. 2. Оформить бланк направления для лабораторного исследования. 3. Промаркировать предметное стекло, предназначенное для взятия биологического материала. 4. Провести гигиеническую антисептическую обработку рук. 5. Надеть медицинские перчатки. 6. Обеспечить свободный доступ к язвенному дефекту. 7. Тщательно и осторожно очистить поверхность дефект кожи или слизистой с помощью марлевой салфетки, смоченной стерильным физиологическим раствором, не травмируя поверхность. <p>II. Выполнение процедуры</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Метод раздражения. Стерильной ложкой Фолькмана провести осторожные (исключая повреждение сосудов), поглаживающие движения по поверхности элемента. Через 10-60 секунд на поверхности элемента образуется прозрачная, слегка опалесцирующая тканевая жидкость. В случае появления кровотечения его следует остановить, прижав ватный тампон к поверхности элемента, после чего продолжить поглаживания. Полученное серозное отделяемое смешать на предметном стекле с равным количеством физиологического раствора, накрыть покровным стеклом, и полученный нативный препарат исследовать под микроскопом. |

| | |
|--|--|
| | <p>2. Метод сдавливания.</p> <p>После очистки сдавить края эрозии/язвы пальцами или пинцетом, стимулируя выделение серозного экссудата. Собрать экссудат с поверхности бактериологической петлей, браншей пинцета или путем аккуратного прикладывания к поверхности эрозии/язвы стерильного предметного стекла. Полученное отделяемое смешать на предметном стекле с равным количеством физиологического раствора, накрыть покровным стеклом, и полученный нативный препарат исследовать под микроскопом.</p> <p>3. Метод скарификации.</p> <p>Используется при исследовании сухих элементов (розеолы, папулы, эпителизированные эрозии). Поверхность исследуемого элемента скарифицировать. Остановить появляющееся капиллярное кровотечение, и методом раздражения скарифицированной поверхности получить серозную жидкость. Полученное отделяемое смешать на предметном стекле с равным количеством физиологического раствора, накрыть покровным стеклом, и полученный нативный препарат исследовать под микроскопом.</p> <p>Первичная проба хранению не подлежит.</p> <p>III. Окончание процедуры</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Подвергнуть дезинфекции расходный материал. 2. Снять перчатки, поместить их в емкость для дезинфекции. 3. Провести гигиеническую антисептическую обработку рук. <p>В случае получения отрицательного результата при первичном исследовании назначить пациенту примочки с физиологическим раствором, после чего отбор пробы повторить через 24 часа.</p> |
|--|--|

Отбор, транспортировка и хранение первичной пробы пунктата лимфатического узла проводится согласно приложению 3 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 3).

Таблица 3 – Отбор первичной пробы пунктата лимфатического узла

| | |
|--|--|
| Наименование процедуры | Отбор первичной пробы пунктата лимфатического узла. |
| Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры) | Специалист, имеющий высшее медицинское образование по специальностям: 1-79 01 01 «Лечебное дело», 1-79 01 02 «Педиатрия». |
| Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала | В соответствии с требованиями нормативных документов. |
| Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения, необходимые для процедуры | <ol style="list-style-type: none"> 1. Стерильные марлевые салфетки, ватные шарики. 2. Медицинские перчатки. 3. Стерильный пинцет. 4. Стерильные пеленки. 5. Лоток. 6. Шприц одноразовый объёмом 20 мл. 7. Шприц одноразовый объёмом 2 мл. 8. Тонкая игла с наружным диаметром 0,6-0,7 мм. 9. Антисептики, разрешенные к применению Министерством здравоохранения. 10. Лейкопластырь. 11. Пробирка типа Эппендорф. 12. Маркер. 13. Манипуляционный столик. 14. Кушетка. |
| Методика выполнения процедуры | <p>I. Подготовка к процедуре:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента информированного согласия на предстоящую процедуру. |

2. Оформить бланк направления для лабораторного исследования.
 3. Промаркировать пробирку, предназначенную для первичной пробы пунктата лимфатического узла.
 4. Провести гигиеническую антисептическую обработку рук.
 5. Надеть медицинские перчатки.
- II. Выполнение процедуры:
1. Пропальпировать плотный, подвижный лимфатический узел без признаков воспаления.
 2. Провести антисептическую последовательную обработку операционного поля над лимфатическим узлом антисептиком.
 3. Набрать в одноразовый шприц объемом 2 мл раствор анестетика.
 4. Ввести раствор антисептика внутривожно до образования «лимонной корочки».
 5. Набрать в одноразовый шприц объемом 20 мл стерильный физиологический раствор – 1 мл.
 6. Зафиксировать лимфатический узел между двумя пальцами левой руки.
 7. Правой рукой ввести в узел иглу, соединённую со шприцем, в котором находится 1 мл стерильного физиологического раствора комнатной температуры. Прокол произвести у одного из полюсов лимфатического узла и проталкивать иглу по направлению длинной оси до противоположного полюса, нагнетая при этом содержащийся в шприце физиологический раствор в узел.
 8. Медленно вывести иглу из узла, одновременно оттягивая поршень шприца на себя.
 9. Последовательно обработать операционное поле антисептиком.
 10. Наложить стерильную салфетку на место прокола, зафиксировать ее лейкопластырем.
- III. Окончание процедуры.
1. Полученную первичную пробу пунктата лимфатического узла поместить в подготовленную

| | |
|--|--|
| | <p>маркированную пробирку типа Эппендорф и немедленно доставить в лабораторию.</p> <p>2. Подвергнуть дезинфекции расходный материал.</p> <p>3. Снять перчатки, поместить их в емкость для дезинфекции.</p> <p>4. Провести гигиеническую антисептическую обработку рук.</p> |
|--|--|

Отбор, транспортировка и хранение первичной пробы венозной крови проводится согласно приложению 4 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 4).

Таблица 4 – Отбор первичной пробы венозной крови

| | |
|--|---|
| Наименование Процедуры | Отбор первичной пробы венозной крови. |
| Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры) | <p>Специалист, имеющий среднее медицинское образование по специальностям: 2-79 01 31 «Сестринское дело», 2-79 01 01 «Лечебное дело».</p> <p>Специалист, имеющий высшее медицинское образование по специальностям: 1-79 01 01 «Лечебное дело», 1-79 01 02 «Педиатрия».</p> |
| Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала | В соответствии с требованиями нормативных документов. |
| Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения, необходимые для процедуры | <p>1. Одноразовый шприц или вакутайнер.</p> <p>2. Пробирка одноразовая с покрытием для быстрого образования сыворотки.</p> <p>3. Медицинские перчатки.</p> <p>4. Жгут.</p> <p>5. Стерильные ватные шарики.</p> <p>6. Маркер.</p> |

| | |
|--------------------------------------|--|
| | <p>7. Полуавтоматический дозатор переменного объема.</p> <p>8. Наконечники одноразовые к дозатору.</p> <p>9. Манипуляционный столик.</p> <p>10. Антисептики, разрешенные к применению Министерством здравоохранения.</p> |
| <p>Методика выполнения процедуры</p> | <p>I. Подготовка к процедуре:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента информированного согласия на предстоящую процедуру. 2. Для лабораторного исследования оформить бланк направления (ф.№222/у-07), ведомость (ф. №201-у-07). 3. Промаркировать пробирку, предназначенную для отбора первичной пробы, в соответствии с требованиями лаборатории, где будет проводиться исследование. 4. Провести гигиеническую антисептическую обработку рук. 5. Надеть медицинские перчатки. <p>II. Выполнение процедуры:*</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Наложить жгут проксимальнее места венепункции. 2. Пропальпировать вену перед дезинфекцией места венепункции. 3. Очистить кожу антисептиком. 4. Дать коже высохнуть. 5. Провести венепункцию и взятие крови в объеме не менее 5 мл. 6. Извлечь иглу из вены, антисептиком. 7. Место венепункции прижать сухим стерильным ватным тампоном. 8. Кровь из шприца внести в маркированную пробирку, выпуская по стенке пробирки медленно, не допуская вспенивания и разбрызгивания. 9. Закрыть пробирку плотно прилегающей резиновой или пластиковой пробкой. |

10. Процедура взятия крови с помощью вакуумных систем:

10.1. Взять иглу и снять защитный колпачок со стороны, закрытой резиновой мембраной.

10.2. Вставить иглу в держатель и завинтить до упора. Подготовить необходимую пробирку (с активатором свертывания (красная крышка), с активатором свертывания + гель (желтая крышка)).

10.3. Снять защитный колпачок со второй стороны иглы, вставить выбранную пробирку крышкой в держатель.

10.4. Не прокалывая резиновую заглушку в крышке пробирки, ввести систему, держатель-игла в вену пациента, как это делается при обычной процедуре взятия крови шприцем.

10.5. Провести венепункцию и взятие крови в объеме не менее 5 мл.

10.6. Извлечь иглу из вены, обработать место антисептиком.

10.7. Место венепункции прижать сухим стерильным ватным тампоном.

III. Окончание процедуры:

1. Поместить пробирку в термоконтейнер для транспортировки, исключить возможность ее опрокидывания. Направления поместить отдельно от пробирок.

2. Подвергнуть дезинфекции расходный материал.

3. Снять перчатки, поместить их в ёмкость для дезинфекции.

4. Провести гигиеническую антисептическую обработку рук.

5. Транспортировку первичных проб в лабораторию произвести в течение 24 часов в специально предназначенных для этого и промаркированных термоконтейнерах, оборудованных хладагентами (для поддержания температуры + 2-8°C).

6. При необходимости сохранения пробы от 2 до 24 часов в процедурном кабинете пробирки с первичными пробами поместить в холодильник при температуре + 2-8°C.

| | |
|--|--|
| | <p>7. При необходимости сохранения первичной пробы свыше 24 провести отделение сыворотки от сгустка: первичный образец поместить в термостат при температуре +37°C на 20-30 минут, затем в холодильник при температуре +2-8°C, на 20-30 минут, затем пробирку подвергнуть центрифугированию при 1000-1500 об./мин в течение 10 минут. Отделившуюся сыворотку перенести в сухую чистую пробирку, предварительно маркированную в соответствии с маркировкой первичной пробы. Для данной манипуляции использовать отдельный наконечник дозатора для каждой пробы. При использовании вакутайнера дополнительная обработка первичной пробы не проводится.</p> <p>8. Пробирку с остатками первичной пробы подвергнуть утилизации в соответствии с требованиями нормативных документов.</p> |
|--|--|

* у новорожденных детей и детей грудного возраста отбор первичной пробы венозной крови может быть проведен из родничковой или пяточной вены

Отбор, транспортировка и хранение первичной пробы спинномозговой жидкости проводится согласно приложению 5 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 5).

Таблица 5 – Отбор первичной пробы спинномозговой жидкости

| | |
|--|---|
| Наименование процедуры | Отбор первичной пробы спинномозговой жидкости (далее – СМЖ). |
| Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры) | Врач-невролог, врач-нейрохирург, врач-анестезиолог-реаниматолог, врач-инфекционист, врач-дерматовенеролог и другие врачи-специалисты, прошедшие специальную подготовку. |
| Требования к обеспечению безопасности | В соответствии с требованиями нормативных документов. |

| | |
|---|--|
| <p>труда медицинского персонала</p> | |
| <p>Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения, необходимые для процедуры</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. Стерильные салфетки и ватные шарики. 2. Медицинские перчатки. 3. Стерильный пинцет или пластиковые (деревянные) палочки. 4. Стерильные пеленки. 5. Лоток. 6. Одноразовый шприц объемом 2-5 мл. 7. Манипуляционный столик. 8. Одноразовые иглы с мандренами для проведения люмбальной пункции, диаметр 0,5-0,6 мм, длина 8-12 см. 9. Лейкопластырь. 10. Две пробирки объемом 10 мл с плотно прилегающей резиновой или пластиковой пробкой. 11. Маркер. 12. Антисептики, разрешенные к применению Министерством здравоохранения. |
| <p>Методика выполнения процедуры</p> | <p>I. Подготовка к процедуре.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента письменного информированного согласия на предстоящую процедуру. 2. Оформить бланк направления для лабораторного исследования. 3. Промаркировать пробирки, предназначенные для взятия спинномозговой жидкости. 4. Провести гигиеническую антисептическую обработку рук. 5. Надеть медицинские перчатки. <p>II. Выполнение процедуры.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Провести антисептическую последовательную обработку операционного поля антисептиком, осушить его. 2. Набрать в одноразовый шприц объёмом 2-5 мл раствор анестетика. |

| | |
|--|---|
| | <p>3. Ввести раствор антисептика внутривожно до образования «лимонной корочки»</p> <p>4. Ввести пункционную иглу с мандреном в область L4-L5, L3-L4.</p> <p>5. По достижении субарахноидального пространства извлечь мандрен и самотеком набрать по 2,0-3,0 мл спинномозговой жидкости в каждую из двух, плотно закрываемых пробирок.</p> <p>6. Вставить мандрен в иглу, вывести иглу.</p> <p>7. Последовательно обработать операционное поле антисептиком.</p> <p>8. Наложить стерильную салфетку на место прокола, зафиксировать ее лейкопластырем.</p> <p>III. Окончание процедуры:</p> <p>1. Пробы поместить в специальный контейнер для транспортировки, исключив возможность опрокидывания и доставить в лабораторию для исследования в течение не более 15 минут (для определения цитоза немедленно). Транспортировку для серологических исследований спинномозговой жидкости допустимо проводить в течение 2 часов, при температуре + 2-8°C. Направления поместить отдельно от пробирок. В случае проведения процедуры в манипуляционной, доставить больного, под контролем среднего медицинского персонала в палату.</p> <p>2. Подвергнуть дезинфекции расходный материал.</p> <p>3. Снять перчатки, поместить их в емкость для дезинфекции.</p> <p>4. Провести гигиеническую антисептическую обработку рук.</p> |
|--|---|

Исследование на *Treponema pallidum* в темном поле зрения проводится согласно приложению 6 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 6).

Таблица 6 – Методика исследования на *Treponema pallidum* в темном поле зрения

| | |
|---|---|
| Наименование метода | Исследование на <i>Treponema pallidum</i> в темном поле зрения. |
| Принцип метода | Визуальная оценка отраженного свечения <i>Treponema pallidum</i> на темном поле при боковом освещении. |
| Биологический материал для исследования | Серозное отделяемое с поверхности эрозий, язв, мацерированных, эрозированных, изъязвленных папул или пустул. Пунктат лимфатического узла. |
| Условия транспортировки проб | Исследование пробы проводят сразу после ее взятия. |
| Подготовка проб к исследованию | См. приложения «Отбор, транспортировка и хранение первичных проб при обследовании пациентов на сифилитическую инфекцию» Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] |
| Оборудование, инструменты и материалы необходимые для процедуры | <ol style="list-style-type: none"> 1. Световой микроскоп, снабженный конденсором темного поля с окуляром 10-12× и объективом 40×. 2. Источник света мощностью не менее 200 Вт. 3. Дистиллированная вода. 4. Пипетка или дозатор для нанесения воды. 5. Предметное стекло. 6. Покровное стекло. 7. Лоток. 8. Дезинфицирующие средства, разрешенные к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь. 9. Пинцет. |
| Подготовка к проведению анализа | <p>Исследование пробы проводят сразу после ее взятия.</p> <p>Подготовка микроскопа:</p> <ul style="list-style-type: none"> – на верхнюю линзу темнопольного конденсора нанести каплю дистиллированной воды или каплю масла для микроскопии; – поместить препарат на столик микроскопа; |

| | |
|--------------------------|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> – поднять конденсор, избегая образования пузырьков; – включить источник света. |
| Процедура анализа | Провести оценку не менее десяти полей зрения. |
| Учет и оценка результата | <p>В темном поле определяются:</p> <ul style="list-style-type: none"> – нейтрофильные лейкоциты – в виде округлых, ярко светящихся зернистых образований; – лейкоциты – серовато-темные, тускло светящиеся клетки округлой формы; – клетки эпителия – круглые или неправильной формы клетки, значительно крупнее лейкоцитов и ярко светящиеся; – эритроциты – в виде темных элементов круглой формы, окаймленных светящейся полоской; – микроорганизмы, обладающие определенными морфологическими характеристиками и характерными движениями. <p>Во время исследования проводится дифференциальная диагностика морфологических признаков <i>Tr. pallidum</i> с <i>Tr. refringers</i>, <i>Tr. phagedenis</i>, <i>Tr. denticola</i>, <i>Tr. microdentium</i>, <i>Tr. buccalis</i>, <i>Tr. vincenti</i>.</p> <p>Характеристика <i>Tr. pallidum</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - тонкая спираль, длиной 6-20 мкм, толщиной 0,13- 0,15 мкм, с равномерными 10-13 (6-20) завитками, с характерными сгибабельными, маятнообразными, вращательными и плавными поступательными движениями. <p>Характеристика <i>Tr. refringers</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - спираль длиной 5-8 мкм, толщиной 0,2-0,3 мкм, с 2-3 завитками, с быстрыми поступательными, очень быстрыми вращательными, выраженными волнообразными движениями, отсутствием сгибабельных и маятнообразных движений. <p>Характеристика <i>Tr. phagedenis</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - спираль длиной 10-12 мкм, толщиной 0,2-0,25 мкм, с 10-12 (10-30) завитками, с медленными свободными, с резкими толчками поступательными движениями, внезапно переходящими от медленных к быстрым |

| | |
|-------------------|--|
| | <p>вращения на месте, колебательными движениями с резкими толчками отсутствием сгибательных и маятникообразных движений.</p> <p>Характеристика <i>Tr. denticola</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - спираль длиной 8 (6-16) мкм, толщиной 0,15-0,2 мкм, с 6-8 (6-16) завитками, с медленными свободными поступательными, с резкими толчками, мягкими, крутящимися, колебательными движениями отсутствием сгибательных и маятникообразных движений. <p>Характеристика <i>Tr. microdentium</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - спираль длиной 5-10 мкм, толщиной 0,2-0,3 мкм (короче и толще бледной трепонемы), сильнее преломляет свет, имеет заостренные завитки, перемещается медленнее без сгибательных движений. <p>Характеристика <i>Tr. buccalis</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - спираль имеет от 3 до 10 широких неравномерных завитков, сильно преломляет свет, активно двигается. <p>Характеристика <i>Tr. vincenti</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - спираль с 2-3 плоскими неравномерными завитками, тонкая и нежная, движется активно, хаотично, ярко светится. <p>Образцы заключения: «<i>Tr. pallidum</i> обнаружена» и «<i>Tr. pallidum</i> не обнаружена».</p> |
| Контроль качества | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – взятие первичной пробы; – правильность маркировки первичной пробы; – исправность микроскопа; – соответствие показателей внешней среды: температуры воздуха, влажности, освещенности рабочего места, тем условиям, которые необходимы для проведения исследования. <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – выполнение методики исследования в соответствии с инструкцией. <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – правильность внесения результатов в бланк исследования; |

| | |
|------------------------|---|
| | – своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование. |
| Безопасность персонала | В соответствии с требованиями нормативных документов. |

Реакция быстрых плазменных реагинов (RPR) проводится согласно приложению 7 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 7).

Таблица 7 – Методика выполнения реакции быстрых плазменных реагинов*

| | |
|---|--|
| Наименование метода | Реакция быстрых плазменных реагинов (RPR). |
| Принцип метода | Образование комплекса «антиген-антитело», имеющего вид флоккулята черного цвета, при взаимодействии сыворотки, СМЖ больного сифилисом и суспензии кардиолипинового антигена с древесным углем. |
| Биологический материал для исследования | Нативная сыворотка крови. Спинномозговая жидкость (СМЖ). |
| Условия транспортировки и хранения проб | <p>Пробирки с кровью, сывороткой транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре + 2-8°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре + 2-8°C не более 24 часов. СМЖ – в течение 2 часов доставляется в лабораторию.</p> <p>В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов.</p> <p>Все положительные пробы подлежат хранению. Хранятся сыворотки крови в холодильнике при температуре +2-8°C, не более 7 суток. Замораживание при температуре минус 20°C позволяет хранить образцы в течение 1 месяца, при температуре -70°C срок хранения не лимитируется. Не допускается оттаивание и повторное замораживание образцов сыворотки крови. При необходимости хранения сыворотки крови в течение более длительного срока проводят замораживание</p> |

| | |
|---|---|
| | <p>сыворотки при разделении ее на несколько дублирующих аликвот по 0,5-1 мл. в пробирки типа Эппендорф. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания ее в обязательном порядке несколько раз перемешивают до начала исследования.</p> |
| <p>Подготовка проб к исследованию</p> | <p>Образцы крови помещают в термостат при +37°C на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещают в холодильник при + 2-8°C на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре + 2-8°C бытового холодильника. Перед выполнением исследования после оттаивания для гомогенизации содержимого пробирки его несколько раз тщательно перемешивают.</p> <p>Перед проведением исследования образцы сыворотки могут быть инактивированы при + 56°C в течение 30 минут или исследоваться без предварительной инактивации (согласно инструкции производителя).</p> <p>Подготовка проб СМЖ не проводится.</p> |
| <p>Оборудование, инструменты и материалы, необходимые для процедуры</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. Набор для RPR. 2. Дозаторы пипеточные переменного объема, позволяющие отбирать 50 мкл, 16 мкл жидкости. 3. Наконечники для дозатора универсальные. 4. Пластиковые палочки, если они не входят в состав набора. 5. Маркер. 6. Пробирки (стеклянные или одноразовые). 7. Орбитальный шейкер. 8. Центрифуга с горизонтальным ротором, развивающая ускорение 1000-3000 оборотов в минуту. 9. Перекись водорода. 10. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов. |

| | |
|---------------------------------|--|
| | <p>11. Средства индивидуальной защиты персонала.</p> <p>12. Дезинфицирующие растворы, разрешенные к применению Министерством здравоохранения.</p> |
| Реагенты | <p>Набор для RPR:</p> <ul style="list-style-type: none"> – готовая к применению суспензия кардиолипинового антигена, сорбированного на мелкодисперсных частицах угля; – положительная контрольная сыворотка (стабилизированная инактивированной сывороткой крови человека); – отрицательная контрольная сыворотка (стабилизированная инактивированной сывороткой крови человека); – картонные или пластиковые карточки с выдавленными неглубокими 18-мм лунками для проведения в них реакции; – диспенсор со съемной иглой для дозированного раскапывания суспензии антигена; – пластиковые палочки для распределения пробы по поверхности карточки. |
| Подготовка к проведению анализа | <p>Перед использованием компоненты набора выдержать при температуре +18-27С° в течение 30 минут.</p> <p>Провести маркировку карточки предназначенной для выполнения исследования.</p> <p>Ампулу (флакон) с кардиолипиновым антигеном тщательно встряхнуть, при необходимости перелить содержимое в диспенсер, надеть дозирующую иглу.</p> |
| Процедура анализа | <p>Качественный вариант:</p> <ul style="list-style-type: none"> – пипеточным дозатором набрать по 50 мкл контрольных и испытуемых проб сыворотки, спинномозговой жидкости и внести в соответствующую лунку карточки; – этим же наконечником или индивидуальной пластиковой палочкой распределить образец биологического материала внутри очерченной зоны |

лунки;

– наконечник и палочку сбросить в ёмкость с дезинфицирующим раствором;

– в каждую лунку добавить по одной капле (или по 16 мкл) хорошо ресуспензированного кардиолипинового антигена;

– для перемешивания содержимого лунок использовать орбитальный шейкер. Карточку поместить на платформу орбитального шейкера (ротора) для постоянного перемешивания содержимого лунок в течение 8 минут при скорости вращения 150 оборотов в минуту;

– через 8 минут приступить к учету результатов реакции.

Количественный вариант:

– в количественном варианте исследуются все пробы, показавшие при скрининге положительные или слабоположительные результаты;

– в лунки карточки со 2-ой по 5-ую (для проб со слабоположительным результатом качественного исследования) или 10-ую внести по 50 мкл свежеприготовленного изотонического раствора натрия хлорида;

– в первую и вторую лунки карточки внести по 50 мкл исследуемого образца биологического материала;

– многократным пипетированием во второй лунке перемешать содержимое, стараясь избежать образования пены;

– перенести 50 мкл полученного разведения (1:2) в третью лунку;

– данную операцию повторять последовательно во всех лунках карточки, из последней лунки 50 мкл удалить в емкость с дезинфицирующим раствором (получают серию разведений: от цельного биологического материала к 1:2, 1:4, ... до 1:16 (5 лунка) или до 1:512 (10 лунка));

– во все лунки карточки добавить по 16 мкл хорошо ресуспензированной суспензии кардиолипинового антигена, поместить планшет для постоянного

| | |
|---------------------------------|---|
| | <p>перемешивания на горизонтальную площадку орбитального шейкера на 8 минут.</p> |
| <p>Учет и оценка результата</p> | <p>Карточку расположить на столе или держать в руках и слегка покачивать, учет результатов проводится визуально (для более четкой регистрации разрешается применять лупу двукратного увеличения).</p> <p>Провести оценку результатов с положительным и отрицательным контролями. При несоответствии результатов исследования контролей заявленным производителем набора, результаты исследования аналитической серии регистрации не подлежат, тест провести заново.</p> <p>Критерием позитивности является образование в исследуемой реакционной смеси частиц флокулята различной величины и просветления реакционной среды:</p> <ul style="list-style-type: none"> – крупные и средней величины агрегаты угольных частиц черного цвета располагаются по всему объему лунки, имеют тенденцию к расположению ближе к периферической части лунки, реакционная среда практически полностью прозрачная – результат «положительный»; – редкие и мелкие агрегаты угольных частиц, хлопья преципитата распределены по периферии реакционной лунки, реакционная среда имеет гомогенную структуру результат «слабоположительный»; – видимые агрегаты угольных частиц в пробе отсутствуют, реакционная среда гомогенной структуры либо частицы угля собираются в центральной части лунки, формируя пятно черного цвета – результат «отрицательный». <p>Учет результатов количественного варианта производят по стандартной методике. Титром антител считают последнее разведение, показавшее положительный результат при RPR тестировании.</p> <p>Если производителем предусмотрена оценка позитивности по системе плюсов «+», необходимо следовать инструкции производителя, предварительно уведомив лечащего врача о порядке учета и интерпретации результатов исследования.</p> |

| | |
|-------------------|--|
| | Использованные карточки хранению не подлежат. После учета карточки подлежат утилизации в соответствии с требованиями нормативных документов. |
| Контроль качества | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – взятие биологического материала в соответствии с требованиями; – выполнение требований хранения и доставки материала в лабораторию; – выполнение требований маркировки проб и соответствия маркировки пробы маркировке направления; – качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипид-емичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов); – контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения; – соответствие показателей внешней среды: температура воздуха, влажность; – -качество лабораторной посуды. <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные, слабopоложительные сыворотки); – соблюдение температурного режима и времени инактивирования образца; – исполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя; – учет результатов с контрольным материалом и испытуемым образцом в соответствии с официально признанными критериями. <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – правильность внесения результатов в бланк исследования; – своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование. |

| | |
|------------------------|---|
| Безопасность персонала | В соответствии с требованиями нормативных документов. |
|------------------------|---|

* описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя (исключение: для перемешивания содержимого лунок, при постановке RPR теста, использовать орбитальный шейкер независимо от инструкции производителя).

Для выявления суммарных антител (или антител одного класса) к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом иммуноферментного анализа используется методика согласно приложению 8 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 8).

Таблица 8 – Методика выявления суммарных антител (или антител одного класса) к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом иммуноферментного анализа*

| | |
|---|--|
| Наименование метода | Выявление суммарных антител (или антител одного класса) к <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке крови, СМЖ методом иммуноферментного анализа. |
| Принцип метода | Образование комплекса антиген-антитело на твердофазном носителе в присутствии конъюгата, меченого ферментом, хромогена, изменение рН и окрашивания реагентной смеси, интенсивность которого пропорциональна концентрации антител. |
| Биологический материал для исследования | Нативная сыворотка крови. Спинномозговая жидкость (СМЖ). |
| Условия транспортировки проб | Пробирки с кровью, сывороткой транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре + 2-8°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре + 2-8°C не более 24 часов. СМЖ в течение 2 часов доставляется в лабораторию. В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов. Все положительные пробы подлежат хранению. Хранятся сыворотки крови в холодильнике при температуре +2-8°C, не более 7 суток. Замораживание при температуре минус 20°C позволяет хранить образцы |

| | |
|---|---|
| | <p>в течение 1 месяца, при температуре -70°C срок хранения не лимитируется. Не допускается оттаивание и повторное замораживание образцов сыворотки крови. При необходимости хранения сыворотки крови в течение более длительного срока проводят замораживание сыворотки при разделении ее на несколько дублирующих аликвот по 0,5-1 мл в пробирки типа Эппендорф. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания ее в обязательном порядке несколько раз перемешивают до начала исследования.</p> |
| <p>Подготовка проб к исследованию</p> | <p>Образцы крови помещают в термостат при $+37^{\circ}\text{C}$ на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещают в холодильник при $+ 2-8^{\circ}\text{C}$ на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре $+ 2-8^{\circ}\text{C}$ бытового холодильника. Перед выполнением исследования после оттаивания для гомогенизации содержимого пробирки его несколько раз тщательно перемешивают.</p> <p>Подготовка проб СМЖ не проводится.</p> |
| <p>Оборудование, инструменты и материалы, необходимые для процедуры</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. Набор реактивов для проведения иммуноферментного анализа. 2. Фотометр для измерения оптической плотности. 3. Полу- или автоматическое устройство для промывания планшет. 4. Пипетки одноканальные автоматические. 5. Пипетки автоматические многоканальные. 6. Наконечники для автоматических пипеток разного объема. 7. Термостат суховоздушный. 8. Мерные цилиндры. 9. Ванночки для реагентов или чашки Петри. 10. Крышка для планшета или клейкая лента. 11. Маркер. 12. Вата медицинская гигроскопическая. 13. Бумага фильтровальная. 14. Спирт этиловый 70% для обработки дозаторов, рабочих поверхностей. |

| | |
|---------------------------------|---|
| | <p>15. Перекись водорода.</p> <p>16. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов.</p> <p>17. Средства индивидуальной защиты персонала.</p> |
| Реагенты | <p>Набор реактивов для проведения иммуноферментного анализа:</p> <ul style="list-style-type: none"> – иммуносорбент: рекомбинантные антигены <i>Trypanoma pallidum</i> (ультразвученный, рекомбинантный, полипептидный); – инактивированный положительный контрольный образец; – инактивированный отрицательный контрольный образец; – конъюгат: смесь рекомбинантных белков <i>Trypanoma pallidum</i> и моноклональных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена; – субстрат; – концентрат фосфатно-солевого буферного раствора; – разводящий буферный раствор для сывороток; – разводящий буферный раствор для конъюгата; – буферный раствор для субстрата; – стоп-реагент. |
| Подготовка к проведению анализа | <p>Перед использованием компоненты набора выдержать при температуре +18-27°C в течение 30 минут.</p> <p>В случае выпадения кристаллов во флаконах с реагентами прогреть их при температуре +37±1°C до полного растворения кристаллов, после чего флаконы интенсивно встряхнуть.</p> <p>Освободить от упаковочного пакета, необходимое для анализа количество стрипов и закрепить их в рамках. Неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре +2-8 °C в течение срока, указанного производителем.</p> <p>Разведение концентратов производить в соответствии с требованиями инструкции по проведению анализа.</p> <p>Перед внесением проб планшет промыть соответствующим раствором с помощью автоматического устройства или 8-канальной автоматической пипетки, если этого требует инструкция производителя.</p> <p>Провести разметку планшета и внести соответствующую нумерацию в протокол исследования.</p> |

| | |
|---------------------------------|---|
| <p>Процедура анализа</p> | <p>В лунки планшета внести раствор для разведения сыворотки в количестве, указанном производителем; Внести контрольные и испытуемые образцы в соответствии с разметкой планшета.</p> <p>Каждый образец после внесения пипетировать до изменения цвета разводящего раствора, если это предусмотрено инструкцией. Планшет закрыть крышкой (заклеить лентой) и инкубировать при +37°C в течение периода времени, указанного в инструкции.</p> <p>Удалить реагентную смесь промыть планшет раствором для промывания в соответствии с инструкцией производителя, остатки влаги удалить. Во все лунки внести конъюгат в рабочем разведении. Планшет закрыть крышкой (заклеить лентой) и инкубировать при +37°C в течение периода времени, указанного производителем.</p> <p>Удалить реагентную смесь и промыть планшет раствором для промывания, остатки влаги удалить.</p> <p>В каждую лунку внести субстрат. Инкубировать при комнатной температуре (+20-25°C) в защищенном от света месте в течение периода времени, указанного производителем.</p> <p>Остановить реакцию путем внесения в каждую лунку стоп-раствора.</p> |
| <p>Учет и оценка результата</p> | <p>Проводится после остановки реакции на спектрофотометре со светофильтром с длиной волны, указанной производителем. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень осуществляется по воздуху.</p> <p>Критерии приемлемости результатов:</p> <ul style="list-style-type: none"> – значения оптической плотности (ОП) в лунках, с контролем конъюгата и отрицательным контролем не превышает указанного в паспорте; – значения ОП в лунках, с положительным контролем не ниже, указанного в паспорте. <p>Для учёта результатов применяется формула:</p> $ОП_{крит} = ОП_{ср. (К-)} + k,$ <p>где ОП_{крит} – граничное значение ОП, ОП_{ср. (К-)} – среднее арифметическое значение ОП отрицательных контрольных проб, k – коэффициент, указанный производителем.</p> <p>Проба считается положительной, если её ОП превышает расчетное значение ОП_{крит}.</p> <p>Проба считается отрицательной, если её значение ниже</p> |

| | |
|--------------------------|--|
| | <p>ОП_{крит.}. Значение ОП, которое находится в промежутке ОП_{крит.}±10% считается неопределенным (серая зона). Проба с положительным и неопределенным результатами повторно тестируется не менее чем в 2-х лунках, предпочтительнее – на тест-системе другого производителя. Образцы заключения: 1. результат ИФА положительный; 2. результат ИФА отрицательный; 3. результат ИФА неопределённый.</p> |
| <p>Контроль качества</p> | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – взятие биологического материала в соответствии с требованиями; – выполнение требований хранения и доставки материала в лабораторию; – выполнение требований маркировки проб и соответствия маркировки пробы маркировке направления; – качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипид-емичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов); – контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения; – соответствие показателей внешней среды – температура воздуха, влажность; – качество дистиллированной воды на соответствие требованиям производителя набора; – качество лабораторной посуды; – правильность установки лабораторной мебели (отсутствие в непосредственной близости источников вибрации, угол наклона лабораторного стола не более 5°). <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные); – исполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя; – внесение пробы и реагентов в центр лунки, не касаясь дна и краев; – качество промывки планшетов: необходимо заполнять лунки в объеме не менее, чем 300 мкл раствора, избегать переполнения и перетекания жидкости в соседние лунки, |

| | |
|------------------------|--|
| | <p>тщательно осушить лунки после каждого этапа промывки.</p> <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – правильность внесения результатов в бланк исследования; – своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование. |
| Безопасность персонала | В соответствии с требованиями нормативных документов |

* описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя.

Для выявления суммарных антител (или антител одного класса) к *Treponema pallidum* методом реакции пассивной гемагглютинации используется методика согласно приложению 9 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 9).

Таблица 9 – Методика выявления суммарных антител (или антител одного класса) к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом иммуноферментного анализа*

| | |
|--|--|
| Наименование метода | Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА, ТРРА, ТРНА). |
| Принцип метода | Взаимодействие антител и антигенов <i>Treponema pallidum</i> , конъюгированных с эритроцитами животных, завершается образованием агглютинатов. |
| Биологический материал для исследования | Нативная сыворотка крови. Спинномозговая жидкость (СМЖ). |
| Условия транспортировки и хранению проб. | <p>Пробирки с кровью, сывороткой транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре + 2-8°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре + 2-8°C не более 24 часов. СМЖ - в течение 2 часов доставляется в лабораторию.</p> <p>В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов.</p> <p>Все положительные пробы подлежат хранению.</p> |

| | |
|---|--|
| | <p>Хранятся сыворотки крови в холодильнике при температуре +2-8°C, не более 7 суток. Замораживание при температуре минус 20°C позволяет хранить образцы в течение 1 месяца, при температуре –70°C срок хранения не лимитируется. Не допускается оттаивание и повторное замораживание образцов сыворотки крови. При необходимости хранения сыворотки крови в течение более длительного срока проводят замораживание сыворотки при разделении ее на несколько дублирующих аликвот по 0,5-1 мл. в пробирки типа Эппендорф. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания ее в обязательном порядке несколько раз перемешивают до начала исследования.</p> |
| <p>Подготовка проб к исследованию</p> | <p>Образцы крови помещают в термостат при +37°C на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещают в холодильник при + 2-8°C на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре + 2-8°C бытового холодильника. Перед выполнением исследования после оттаивания для гомогенизации содержимого пробирки его несколько раз тщательно перемешивают.</p> <p>Подготовка проб СМЖ не проводится.</p> |
| <p>Оборудование, инструменты и материалы, необходимые для процедуры</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. Набор для РПГА. 2. Дозаторы пипеточные переменного объема, позволяющие отбирать 100 мкл, 90 мкл, 80 мкл, 20 мкл, 10 мкл жидкости. 3. Наконечники для дозатора универсальные. 4. Пробирки (стеклянные или одноразовые). 5. Планшеты иммунологические с U-образным дном. 6. Центрифуга с горизонтальным ротором, развивающая ускорение 1000-3000 оборотов в минуту. |

| | |
|---------------------------------|--|
| | <p>7. Перекись водорода.</p> <p>8. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов.</p> <p>9. Маркер.</p> <p>10. Средства индивидуальной защиты персонала.</p> <p>11. Дезинфицирующие растворы, разрешенные к применению Министерством здравоохранения.</p> <p>12. Оборудование для автоматизированного учета результатов.</p> |
| Реагенты | <p>Набор для РПГА:</p> <ul style="list-style-type: none"> – тест-эритроциты – эритроциты животных, сенсibilизированные антигеном <i>Treponema pallidum</i> (вместо эритроцитов животных производителем могут использоваться частицы латекса); – контрольные эритроциты; – буферный раствор для разведения проб; – раствор для разведения эритроцитов; – положительный и отрицательный контроли; – мерные дозирующие пипетки для тест- эритроцитов и контрольных эритроцитов; – иммунологические планшеты с 96 лунками для постановки реакции (в состав набора могут не включаться). |
| Подготовка к проведению анализа | <p>Перед использованием компоненты набора выдержать при температуре +18-27С в течение 30 минут.</p> <p>Провести маркировку планшета:</p> <ul style="list-style-type: none"> – ряды 1, 2, 7, 8 – предварительное разведение проб; – ряды 3, 9 – проведение реакции с контрольными эритроцитами; – ряды 4, 10 – проведение реакции с тест-эритроцитами; – ряд 12 – контрольные пробы. <p>Вскрыть флаконы с контрольными и тест- эритроцитами и развести их указанным в инструкции количеством раствора для разведения.</p> <p>Тщательно перемешать плавными покачивающими движениями для обеспечения равномерной взвеси.</p> |

| | |
|---------------------------------|---|
| <p>Процедура анализа</p> | <p>Качественный вариант:</p> <ul style="list-style-type: none"> – внести в лунки планшета требуемое в инструкции количество буферного раствора для разведения проб; – провести разведение контрольных и исследуемых проб в соответствии с инструкцией; – внести контрольные и тест-эритроциты в соответствующие ряды; – перемешать реагентную смесь путем аккуратного постукивания в течение 30 секунд или на шейкере; – планшет накрыть крышкой, оставить при комнатной температуре в неподвижном состоянии, учет результатов произвести через 60 минут. <p>Количественный вариант (исследуются все пробы, показавшие при скрининге положительные или слабоположительные результаты):</p> <ul style="list-style-type: none"> – в лунки планшета со 2-й по 10-ю внести требуемое инструкцией производителем количество раствора для разведения сыворотки; – в 1-ю и 2-ю лунки планшета внести исследуемую пробу в количестве, предусмотренном инструкцией; – многократным пипетированием во 2-ой лунке перемешать содержимое, стараясь избежать образования пены; – перенести требуемое количество полученного разведения последовательно во все лунки; – во все лунки планшета добавить тест-эритроциты в количестве, предусмотренном инструкцией производителя; – перемешать реагентную смесь путем аккуратного постукивания в течение 30 секунд или на шейкере; – планшет накрыть крышкой, оставить при комнатной температуре в неподвижном состоянии, учет результатов производят через 60 минут. |
| <p>Учет и оценка результата</p> | <p>При автоматизированном учете результатов реакции необходимо следовать инструкции производителя прибора автоматизированного учёта.</p> <p>При визуальном учете: учесть результаты положительного и отрицательного контролей. При</p> |

| | |
|-------------------|---|
| | <p>несоответствии результатов критериям, заявленным производителем набора, тестирование проводится повторно.</p> <p>Критерием оценки результатов РПГА является форма и характер осадка эритроцитов на дне лунок иммунологического планшета:</p> <ul style="list-style-type: none"> – эритроциты располагаются ровным слоем по всему дну лунки, высокое содержание специфических антител в пробе – результат «резко положительный»; – эритроциты располагаются на большей части дна лунки, при этом по периферии осадка формируется заметное кольцо из осадка эритроцитов – результат «положительный»; – эритроциты располагаются на небольшой части дна лунки, в центральной части формируется плотное кольцо из осадка эритроцитов с заметным просветлением в центральной части – результат «слабоположительный»; – компактный осадок в центральной части дна лунки на чистом окружающем фоне – результат «отрицательный». <p>Если производителем предусмотрена оценка позитивности по системе плюсов «+», необходимо следовать инструкции производителя, предварительно уведомив лечащего врача о порядке учета и интерпретации результатов исследования.</p> |
| Контроль качества | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – взятие биологического материала в соответствии с требованиями; – выполнение требований хранения и доставки материала в лабораторию; – выполнение требований маркировки проб и соответствия маркировки пробы маркировке направления; – качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипид-емичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов); – контроль диагностикума (внешнее состояние, срок |

| | |
|------------------------|--|
| | <p>годности), условия и сроки хранения;</p> <ul style="list-style-type: none"> – соответствие показателей внешней среды – температура воздуха, влажность; – качество лабораторной посуды; – правильность установки лабораторной мебели (отсутствие в непосредственной близости источников вибрации, угол наклона лабораторного стола не более 5°). <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные); – выполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя. <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – правильность внесения результатов в бланк исследования; – своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование. |
| Безопасность персонала | В соответствии с требованиями нормативных документов |

* описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя

Для выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом непрямой иммунофлюоресценции используется методика согласно приложению 10 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 10).

Таблица 10 – Методика выявления суммарных антител (или антител одного класса) к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом непрямой иммунофлюоресценции*

| | |
|---------------------|--|
| Наименование метода | Выявление суммарных антител к <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом непрямой иммуно- флюоресценции (РИФ-абс, РИФ-200, РИФ-ц). |
|---------------------|--|

| | |
|---|---|
| Принцип метода | Выявление комплекса антиген-антитело с помощью иммуноглобулинов диагностических флюоресцирующих антивидовых против иммуноглобулинов человека. |
| Биологический материал для исследования | Нативная сыворотка крови. Спинномозговая жидкость (СМЖ). |
| Условия транспортировки проб | <p>Пробирки с кровью, сывороткой транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре + 2-8°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре + 2-8°C не более 24 часов. СМЖ – в течение 2 часов доставляется в лабораторию.</p> <p>В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов.</p> <p>Все положительные пробы подлежат хранению. Хранятся сыворотки крови в холодильнике при температуре +2-8°C, не более 7 суток. Замораживание при температуре минус 20°C позволяет хранить образцы в течение 1 месяца, при температуре –70°C срок хранения не лимитируется. Не допускается оттаивание и повторное замораживание образцов сыворотки крови. При необходимости хранения сыворотки крови в течение более длительного срока производят замораживание сыворотки при разделении ее на несколько дублирующих аликвот по 0,5-1 мл в пробирки типа Эппендорф. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания ее в обязательном порядке несколько раз перемешивают до начала исследования.</p> |
| Подготовка проб к исследованию | <p>Образцы крови помещают в термостат при +37°C на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещают в холодильник при +2-8°C на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре +2-8°C бытового холодильника. Для гомогенизации</p> |

| | |
|--|--|
| | <p>содержимого пробирки после оттаивания его несколько раз тщательно перемешивают перед выполнением исследования.</p> <p>Подготовка проб СМЖ не проводится.</p> |
| Оборудование, инструменты и материалы, необходимые для процедуры | <ol style="list-style-type: none"> 1. Набор для реакции непрямой иммунофлюоресценции. 2. Микроскоп люминисцентный с ртутно- кварцевой лампой, иммерсионной системой, окуляром 4× или 5×, фильтрами СЗС-7 или СЗС- 14; ФС-1; БС-8. 3. Пипетки одноканальные автоматические. 4. Пипетки автоматические многоканальные. 5. Наконечники для автоматических пипеток разного объема. 6. Термостат суховоздушный. 7. Центрифуга. 8. Влажная камера. 9. Мерные цилиндры. 10. Емкости для промывки стекол. 11. Нефлуоресцирующее иммерсионное масло (диметилфталат). 12. Маркер. 13. Вата медицинская гигроскопическая. 14. Бумага фильтровальная. 15. Спирт этиловый 96%, 70% (для обработки оптических частей микроскопа (объектив, окуляр), для обезжиривания предметных стекол, для обработки дозаторов). 16. Перекись водорода. 17. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов. 18. Средства индивидуальной защиты персонала. |
| Реагенты | <p>Набор для реакции непрямой иммунофлюоресценции:</p> <ul style="list-style-type: none"> – стекло предметное с фиксированным инактивированным антигеном <i>Treponema pallidum</i>; – положительный контрольный образец; – слабоположительный контрольный образец; – отрицательный контрольный образец; – конъюгат: антитела к иммуноглобулинам человека, меченные флюорохромом; – сорбент: лиофилизированный экстракт из культуры <i>Treponema pallidum</i>, дезинтегрированных ультразвуком; |

| | |
|---------------------------------|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> – концентрат фосфатного буферного раствора; – физиологический раствор. |
| Подготовка к проведению анализа | <p>Необходимое количество предметных стекол с антигеном выдержать при температуре +18-27°C в течение 30 минут; стекла с антигеном без упаковки, хранению не подлежат.</p> <p>Концентрат фосфатного буферного раствора тщательно взболтать, в случае выпадения кристаллов, прогреть при температуре +37±1°C до полного растворения кристаллов, после чего флаконы интенсивно встряхнуть. Содержимое флакона развести дистиллированной водой в соответствии с инструкцией производителя. Приготовить предварительное и рабочее разведения сорбента в соответствии с инструкцией.</p> <p>Приготовить предварительное и рабочее разведения конъюгата в соответствии с инструкцией. Рабочее разведение конъюгата разведению не подлежит.</p> <p>Контрольные образцы и инактивированные исследуемые пробы развести:</p> <ul style="list-style-type: none"> – для РИФ-200 – буферным раствором в 200 раз; – для РИФаbc – сорбентом в рабочем разведении в 5 раз; – для РИФц – использовать неразведенную СМЖ. |
| Процедура анализа | <p>Нанести исследуемые пробы на антиген, фиксированный на стекле, равномерно покрывая препарат. Избегать касания наконечником поверхности стекла.</p> <p>Поместить препарат во влажную камеру, инкубировать при температуре +37±1°C в течение 30 минут.</p> <p>Препараты промыть в соответствии с инструкцией производителя.</p> <p>Высушить в термостате при температуре +37±1°C в течение 20-25 минут до полного высыхания.</p> <p>На препарат нанести раствор конъюгата в рабочем разведении, поместить во влажную камеру при температуре +37±1°C в течение 30 минут.</p> <p>Препарат отмыть в новой порции отмывающего раствора в соответствии с инструкцией производителя. Высушить в термостате при температуре +37±1°C в течение 20-25 минут до полного высыхания.</p> <p>Готовые препараты необходимо предохранять от воздействия света.</p> <p>Исследование препарата проводить сразу после окончания реакции, нанеся на поверхности одну каплю нефлюоресцирующего иммерсионного масла. Если</p> |

| | |
|---------------------------------|---|
| | <p>инструкция предусматривает отклонение от описанной процедуры анализа, необходимо следовать инструкции производителя.</p> <p>Количественный вариант:</p> <p>В количественном варианте исследуются все пробы, показавшие положительные результаты.</p> <p>В чистых, сухих пробирках приготовить последовательные разведения пробы от 1:5 до 1:2560 (при необходимости и более): в 10 пробирок внести по 80 мкл сорбента в рабочем разведении; в 1-ю пробирку добавить 20 мкл сыворотки крови, из первой пробирки после тщательного перемешивания перенести 20 мкл во вторую; повторить процедуру последовательно до 10-ой пробирки; 20 мкл из 10-й пробирки удалить в дезинфицирующий раствор.</p> <p>Процедуру анализа повторить в отношении каждого разведения в соответствии описанной выше.</p> <p>При постановке количественного варианта по РИФ-200 сыворотка крови разводится буферным раствором от 1:200 до 1:51200 (при необходимости и более).</p> |
| <p>Учет и оценка результата</p> | <p>Учет результатов реакции осуществлять путем оценки интенсивности свечения <i>Treponema pallidum</i> под воздействием ультрафиолетового света в люминисцентном микроскопе.</p> <p>Критерии приемлемости результатов:</p> <ul style="list-style-type: none"> – положительный контрольный образец дает свечение 4+; – слабоположительный контрольный образец дает свечение 2+; – отрицательный контрольный образец не дает свечения. <p>Проба считается положительной, если препарат дает блестящее зелено-желтое свечение (4+), яркое зелено-желтое свечение (3+).</p> <p>Проба считается слабоположительной, если свечение бледно-зеленого цвета.</p> <p>Отрицательными считаются образцы, если трепонемы окрашены незначительно интенсивнее фона или не дают свечения вообще.</p> |
| <p>Контроль качества</p> | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – взятие биологического материала в соответствии с требованиями; – выполнение требований хранения и доставки материала в лабораторию; – выполнение требований маркировки проби |

| | |
|------------------------|---|
| | <p>соответствия маркировки пробы маркировке направления;</p> <ul style="list-style-type: none"> – качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипид-емичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов); – контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения; – соответствие показателей внешней среды – температура воздуха, влажность; – качество лабораторной посуды; – правильность установки лабораторной мебели (отсутствие в непосредственной близости источников вибрации, угол наклона лабораторного стола не более 5°). <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные, слабоположительные); – исполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя; – качество промывки стекол соответствует инструкции производителя; – использование для учета реакции нефлюоресцирующего иммерсионного масла и предусмотренных производителем светофильтров; – учет результатов с контрольным материалом и испытуемым образцом в соответствии с официально признанными критериями. <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – правильность внесения результатов в бланк исследования; – своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование. |
| Безопасность персонала | В соответствии с требованиями нормативных документов |

* Описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя.

Для выявления антител к отдельным антигенам возбудителя сифилиса методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов используется методика согласно приложению 11 к Инструкции по лабораторной диагностике сифилиса [1] (таблица 11).

Таблица 11 – Методика выявления антител к отдельным антигенам возбудителя сифилиса методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов*

| | |
|---|---|
| Наименование метода | Выявление антител классов G, M к <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке крови, СМЖ методом линейного иммуноблоттинга. |
| Принцип метода | При наличии в исследуемом образце антител к <i>Treponema pallidum</i> они связываются с антигенами иммуносорбента, образовавшиеся комплексы антиген-антитело связываются с конъюгатом-козьими антителами к Ig G или Ig M человека, меченными щелочной фосфатазой и выявляются по цветной реакции с хромогеном. |
| Биологический материал для исследования | Нативная сыворотка крови. Спинномозговая жидкость (СМЖ). |
| Условия транспортировки проб | <p>Пробирки с кровью, сывороткой транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре + 2-8°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре + 2-8°C не более 24 часов. СМЖ - в течение 2 часов доставляется в лабораторию.</p> <p>В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов.</p> <p>Все положительные пробы подлежат хранению. Хранятся сыворотки крови в холодильнике при температуре +2-8°C, не более 7 суток. Замораживание при температуре минус 20°C позволяет хранить образцы в течение 1 месяца, при температуре -70°C срок хранения не лимитируется. Не допускается оттаивание и повторное замораживание образцов сыворотки крови. При необходимости хранения сыворотки крови в течение более длительного срока проводят замораживание сыворотки при разделении ее на несколько дублирующих аликвот по 0,5-1 мл в пробирки типа Эппендорф. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания ее в обязательном порядке несколько раз перемешивают до начала исследования.</p> |

| | |
|--|---|
| <p>Подготовка проб к исследованию</p> | <p>Образцы крови помещают в термостат при +37°C на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещают в холодильник при + 2-8°C на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре + 2-8°C бытового холодильника. Перед выполнением исследования после оттаивания для гомогенизации содержимого пробирки его несколько раз тщательно перемешивают. Подготовка проб СМЖ не проводится.</p> |
| <p>Оборудование, инструменты и материалы, необходимы для процедуры</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. Набор реактивов для проведения иммунного блоттинга. 2. Дозаторы пипеточные для внесения реагентов, ручные или автоматические промыватели, или восьми и двенадцатиканальные пипеточные дозаторы для промывания лунок планшета. 3. Наконечники для дозаторов разного объема. 4. Орбитальный шейкер 5. Бумага фильтровальная. 6. Спирт этиловый 70% для обработки дозаторов, рабочих поверхностей. 7. Перекись водорода. 8. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов. 9. Средства индивидуальной защиты персонала. |
| <p>Реагенты</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. Имуносорбент; 2. Контрольный положительный образец; 3. Контрольный отрицательный образец; 4. Конъюгат; 5. Раствор для разведения образцов (РРО); 6. Концентрат промывочного раствора; 7. Субстратный раствор; 8. Сорбент; 9. Референс-стрип. |
| <p>Подготовка к проведению анализа</p> | <p>Перед использованием компоненты набора выдержать при температуре +18-25°C в течение 30 минут. Приготовить (при необходимости) рабочие растворы, согласно инструкции производителя.</p> |

| | |
|--------------------------|--|
| Процедура анализа | <ol style="list-style-type: none"> 1. В канавки планшета со стрипами внести по 1 мл. РРО, выдержать 3-5 мин. При встряхивании на шейкере при скорости качания платформы 30-0об/мин при температуре от 18 до 25°C. 2. Отдельными наконечниками внести по 20 мкл контрольных образцов или по 40 мкл супернатанта (в зависимости от комплектации набора). 3. Заклеить занятые дорожки клейкой пленкой или закрыть крышкой. Поместить планшет на шейкер. Инкубировать 2 ч на шейкере при температуре от 18 до 25 °С. 4. После инкубации удалить жидкость из канавок планшета, используя дозатор. 5. Промыть каждый стрип 4 раза рабочим промывочным раствором, внося в канавку по 2 мл раствора. При первой промывке раствор удалить из лунки, как указано в п.4. При последующих трех промывках после внесения промывочного раствора выдерживать планшет по 5 мин на шейкере. Удаление промывочного раствора проводить, как указано в п.4. 6. Во все использованные канавки планшета внести по 1,0 мл конъюгата. 7. Инкубировать в течение 30 мин при температуре от 18 до 25 °С на шейкере. 8. После инкубации удалить жидкость из канавок планшета, как указано в п.4. Промыть стрипы, как указано в п.5; 9. Внести во все использованные канавки по 1,0 мл субстратного раствора. Инкубировать 15 мин или 10 мин (в зависимости от комплектации набора) на шейкере в защищенном от света месте при температуре от 18 до 25 °С до появления на стрипе окрашенных линий; 10. Для остановки реакции удалить субстратный раствор, как указано в п.4. Промыть стрипы 4 раза, внося в канавки по 2 мл воды очищенной и выдерживая планшет по 1 мин на шейкере. Воду удалять, согласно п.4; 11. Поместить стрипы между двумя листами фильтровальной бумаги маркированной стороной вверх и выдержать в защищенном от света месте до полного высыхания, после чего сразу же зарегистрировать результаты. |
| Учет и оценка результата | Регистрацию результатов проводить визуально, сравнивая интенсивность окраски антигенных линий с интенсивностью окраски контрольных линий: |

1. Окрашивание отсутствует или менее интенсивно, чем «0,5+» - отрицательная оценка;
2. Интенсивность окрашивания равна «0,5+» - 0,5 оценка;
3. Интенсивность окрашивания выше «0,5+», но ниже или равна «1+» - 1+ оценка;
4. Интенсивность окрашивания выше «1+», но ниже чем «3+» - 2+ оценка;
5. Интенсивность окрашивания равна «3+» - 3+ оценка;
6. Интенсивность окрашивания выше, чем «3+» - 4+ оценка;

Результаты, полученные на стрипах с исследуемыми образцами, учитывать только при соблюдении следующих условий:

- контрольная линия внесения образца окрашена;
- контрольная линия специфичности не окрашена;
- хорошо различимы контрольные линии интенсивности окрашивания с четкой их дифференциацией.

Если данные условия не соблюдаются, исследование необходимо повторить.

Для оптимального учета результатов проявленные стрипы рекомендуется прикреплять к протоколу так, чтобы контрольные линии интенсивности 3+ у всех стрипов и соответствующая линия на рисунке протокола были на одном уровне. В этом случае проявленные антигенные линии будут находиться на уровне линий соответствующих антигенов на рисунке протокола. Для закрепления стрипов на протоколе можно использовать полосы из защитной пленки для планшета, которыми комплектуется набор. При соблюдении вышеперечисленных условий интерпретировать результаты, полученные на стрипах с исследуемыми образцами, используя следующие данные:

- 1) нет окрашенных линий или есть только одна линия с интенсивностью окрашивания, равной «0,5+» - отрицательный результат;
- 2) есть только одна линия с интенсивностью окрашивания «1+» - неопределенный результат;
- 3) есть не менее двух линий с интенсивностью окрашивания «0,5+» - положительный результат.

При получении неопределенного результата рекомендуется провести повторное исследование; если в нем вновь будет получен неопределенный результат,

| | |
|------------------------|---|
| | <p>рекомендуется взятие крови через 3-4 недели с проведение нового исследования на выявление антител к антигенам <i>Treponema pallidum</i>.</p> |
| Контроль качества | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – взятие биологического материала в соответствии с требованиями; – выполнение требований хранения и доставки материала в лабораторию; – выполнение требований маркировки проб и соответствия маркировки пробы маркировке направления; – -качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипид- емичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов); – контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения; – соответствие показателей внешней среды – температура воздуха, влажность; – качество дистиллированной воды на соответствие требованиям производителя набора; – качество лабораторной посуды; – правильность установки лабораторной мебели (отсутствие в непосредственной близости источников вибрации, угол наклона лабораторного стола не более 5°). <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные); – исполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя; – внесение пробы и реагентов в канавки планшет; – качество промывки планшетов; <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – правильность внесения результатов в бланк исследования; – своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование. |
| Безопасность персонала | <p>В соответствии с требованиями нормативных документов</p> |

* описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя

ВОЗМОЖНЫЕ СОЧЕТАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ НА СИФИЛИС И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ИХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первичный сифилис характеризуется ранней выработкой специфических IgM-антител, которые обнаруживаются уже к концу второй недели после заражения, в то время как IgG-антитела начинают вырабатываться через 4 недели после заражения. Для диагностики первичного сифилиса лучше подходят тесты на специфические IgM, с диапазоном чувствительности от 92% до 98% (ИФА и РИФ). НТТ может давать отрицательный результат. Повторение анализа через 5-7 дней усилит уверенность врача в правильности диагноза при позитивации НТТ и положительном результате ИФА. РИФ-200, РИФ-абс обычно уже положительные.

При вторичном и раннем скрытом сифилисе, как правило, НТТ и ТТ дают положительные результаты с высокими титрами антител.

При сифилисе позднем скрытом, висцеральном, позднем нейросифилисе НТТ не показательны, так как могут быть отрицательными, слабо положительными или положительными с низкими титрами антител. ИФА-IgG у этих пациентов положительны с высокими титрами антител, а ИФА-IgM практически всегда даёт отрицательный результат. РИФ, РПГА положительные практически у 100% больных.

Диагностика нейросифилиса проводится на основании клинических признаков, результатов томографического исследования структур головного и спинного мозга (КТ или ЯМРТ), результатов морфобиохимических и серологических исследований СМЖ, при этом наиболее чувствительными серологическими тестами выступают РИФ-ц, ИФА-IgG+IgM, ИФА-IgG. Измерение индекса РПГА, отражающего местную продукцию антител в СМЖ, может иметь диагностическую ценность при поздних скрытых и маломанифестных формах нейросифилиса.

Для ранней диагностики врожденного сифилиса за рубежом используются РИФ-тесты на основе флуоресцирующих антител, разработанные для детекции специфических IgM. Большие молекулы IgM не способны проходить через плаценту, и они обнаруживаются в крови плода только если плацентарный барьер нарушен, или если они активно продуцируются инфицированным плодом. По этой причине выявление специфических IgM-антител в сыворотке, полученной от новорожденных детей, считается доказательством врожденного сифилиса. Однако, ввиду незрелости иммунного ответа у детей с врожденным сифилисом (преждевременные роды, преобладание недоношенных детей и т.п.)

положительный результат тестов, выявляющих специфические IgM-антитела, мы можем получить лишь в 39-50% случаев подтвержденного врожденного сифилиса.

При раннем врожденном сифилисе НТТ, РПГА и ИФА дают положительный результат. Ориентироваться только на выявление у этих детей IgM-антител пока рано по причине несовершенства имеющихся у нас диагностических тест-систем. В таких случаях в качестве подтверждающих реакций лучше использовать RPR, РИФ-200, РИФ-абс, РПГА в сочетании с ИФА в повторных постановках у матери и у ребенка. В пользу наличия врожденного сифилиса у ребенка будут говорить положительные результаты НТТ, РИФ, РПГА и ИФА с титрами антител на уровне материнских (при наличии клинических признаков) или выше, особенно если они не снижаются в течение 3-6 месяцев после рождения.

Возможные сочетания результатов серологических тестов:

1. НТТ – отрицательные, ТТ – отрицательные:
 - обследуемый пациент здоров и никогда не страдал сифилисом;
 - первичный сифилис на первой неделе развития. Показано, что у 30-40% больных с положительными результатами темнопольной микроскопии определяются отрицательные НТТ и у 25% – отрицательные ТТ;
 - первичный сифилис после лечения. Спустя 6-12 месяцев после терапии НТТ становятся отрицательными у 98-100%, а ТТ – у 25-50% пациентов;
 - отрицательные НТТ и ТТ могут наблюдаться у ВИЧ-инфицированных в стадии активного сифилиса при феноменах Hass и Nick вследствие отсроченной сероконверсии.
2. НТТ – отрицательные, ТТ – положительные:
 - при ранних формах манифестного сифилиса после успешного лечения;
 - при первичном сифилисе, когда сероконверсия НТТ отстает от таковой при ТТ;
 - при вторичном сифилисе и феномене прозоны;
 - при позднем нелеченном сифилисе (НТТ бывают отрицательными у 20-40% больных);
 - при биологически ложноположительных ТТ, наблюдающихся на фоне аутоиммунных, онкологических и инфекционных заболеваний, у беременных, в терминальной стадии ВИЧ-инфекции.
3. НТТ – положительные, ТТ – отрицательные:

Это сочетание чаще всего встречается при биологических ложноположительных серологических реакциях у лиц с аутоиммунными, онкологическими и инфекционными заболеваниями, лепрой, а также у людей преклонного возраста, у наркоманов.

4. НТТ – положительные, ТТ – положительные:

- у больных сифилисом, не получавших лечения, в любой стадии инфекции;
- у больных поздним сифилисом, серорезистентным сифилисом, получавших лечение;
- при других трепонематозах (фрамбезия, беджель, пинта);
- при лайм-боррелиозе.

Ложноположительные серологические реакции на сифилис (далее – ЛПР) – положительные результаты серологических реакций на сифилис у лиц, не страдающих сифилитической инфекцией и не болевших сифилисом в прошлом. ЛПР могут быть обусловлены техническими погрешностями при выполнении исследований и особенностями организма.

ЛПР разделяют на острые (< 6 месяцев) и хронические (> 6 месяцев).

Острые ЛПР могут наблюдаться при:

- беременности и во время менструации;
- после вакцинации;
- после недавно перенесенного инфаркта миокарда;
- при многих инфекционных заболеваниях (лепра, малярия, респираторные заболевания, грипп, ветряная оспа, вирусный гепатит, ВИЧ-инфекция) и дерматозах.

Хронические ЛПР могут наблюдаться при:

- аутоиммунных заболеваниях;
- системных болезнях соединительной ткани;
- онкологических заболеваниях;
- хронической патологии печени и желчевыводящих путей;
- сердечно-сосудистой и эндокринной патологии;
- заболеваниях крови;
- хронических заболеваниях легких;
- инъекционном применении наркотиков;
- в старческом возрасте и др.

Ложноположительные реакции ТТ и НТТ могут наблюдаться при эндемических трепонематозах (фрамбезия, пинта, беджель), боррелиозе,

лептоспирозе. Количество ЛПР увеличивается с возрастом. В возрастной группе 80-летних лиц распространенность ЛПР составляет 10 %.

Ложноотрицательные серологические реакции на сифилис отмечаются при вторичном сифилисе вследствие феномена прозоны при тестировании неразведенной сыворотки, а также при обследовании лиц с иммунодефицитом, например, ВИЧ-инфицированных пациентов.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Перечень медицинских показаний для обязательного клинико-лабораторного обследования на сифилитическую инфекцию при обращении за медицинской помощью

1. ИФА (или РПГА) + РИФ-абс, РИФ-200 + RPR (или VDRL)

| №п/п | Контингенты, подлежащие обследованию | Кратность |
|------|---|--|
| 1 | Лица, имевшие контакт (половой или тесный бытовой) с больным сифилисом. | Исследование проводится дважды: 1) При первичном обращении; 2) Через 6 недель (при контакте с больными ранними формами сифилиса и проведенном превентивном лечении). |

2. ИФА (или РПГА) + RPR (или VDRL)

| №п/п | Контингенты, подлежащие обследованию | Кратность |
|------|---|---|
| 1 | Беременные женщины. | Исследование проводится три раза: при 1-ой явке, в сроке 28-30 недель беременности, а также при поступлении в роддом. |
| 2 | Невынашивание беременности, преждевременные роды, мертворождение. | При первичном обращении. |
| 3 | Доноры крови, плазмы и других биологических жидкостей и тканей. | При каждом обращении. |
| 4 | Лица, подвергшиеся сексуальному насилию. | Исследование проводится дважды: 1. При первичном обращении 2. Через 6 недель. |

| | | |
|---|---|---|
| 5 | Медицинские работники в случае контакта с биологическим материалом пациента, возникающего в результате аварийной ситуации (порез, укол и т.д.). | Исследование проводится дважды: 1. При первичном обращении 2. Через 6 недель. |
| 6 | Мягкий шанкр, паховый лимфогранулематоз, донованоз, эрозивно-язвенные поражения кожи и слизистых любой локализации*. | При первичном обращении. |
| 7 | Психические заболевания. | При первичном обращении и далее 1 раз в год. |
| 8 | Иностранцы граждане при оформлении вида на жительство. | При первичном обращении. |

*дополнительно проводится темнопольная микроскопия отделяемых эрозивных или язвенных дефектов кожи и слизистых оболочек (при отсутствии положительного результата исследования и отрицательных серологических реакциях - не менее 3-х раз).

3. ИФА

| | | |
|---|--|--------------------------|
| 1 | Поражение органов слуха (тугоухость, нарушение функций вестибулярного аппарата)*. | При первичном обращении. |
| 2 | Миокардит, аортит, аневризма аорты, приобретенные пороки сердца, воспалительные изменения паренхиматозных органов неясной этиологии*. | При первичном обращении. |
| 3 | Остеомиелиты, остеоperiоститы, синовиты*. | При первичном обращении. |
| 4 | Менингоневриты, менингиты, энцефалиты, миелиты, полирадикулоневриты, менинговаскулиты по типу ишемических и геморрагических инсультов, васкулиты спинного мозга, объемные процессы головного и спинного мозга, мононевриты, полиневриты, плекситы, клинические проявления табеса*. | При первичном обращении. |

| | | |
|----|---|--|
| 5 | Носительство вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция), носительство маркеров парентеральных гепатитов. | При первичном обращении и далее 1 раз в год. |
| 6 | Скрининговое обследование лиц с целью выявления инфекций, передающихся половым путем, в том числе лица с установленным диагнозом инфекций, передающихся половым путем, при анонимном обследовании*. | При первичном обращении. |
| 7 | Чесотка, педикулез (кроме детей в возрасте до 14 лет)*. | При первичном обращении. |
| 8 | Воспалительные изменения в области миндалин при одностороннем процессе, наличии на них эрозий и язв, отсутствии температуры, глоссит, ларингит, сопровождающийся дисфонией*. | При первичном обращении. |
| 9 | Геморрой, трещины заднего прохода, проктит, парапроктит*. | При первичном обращении. |
| 10 | Высыпания на коже и слизистых оболочках, сопровождающиеся лимфангитом, лимфаденитом (кроме детей в возрасте до 14 лет)*. | При первичном обращении. |
| 11 | Алоpecia (кроме детей в возрасте до 14 лет)*. | При первичном обращении. |
| 12 | Температурная реакция на прием антибактериальных лекарственных средств*. | При первичном обращении . |
| 13 | Злокачественные новообразования *. | При первичном обращении. |
| 14 | Подростки, состоящие на учете в инспекции по делам несовершеннолетних. | При взятии на учет. |
| 15 | Лица из «групп риска» (мужчины, имеющие секс с мужчинами (МСМ), работники коммерческого секса)*. | При первичном обращении. |
| 16 | Женщины, направляемые на прерывание беременности или другие внутриматочные манипуляции*. | При первичном обращении. |
| 17 | Пациенты, за которыми установлено | При взятии на учет и |

| | | |
|----|---|---|
| | диспансерное наблюдение в наркологических диспансерах. | далее 1 раз в год. |
| 18 | Лица в возрасте от 14 лет и до 70 лет при госпитализации (кроме клинических показаний, указанных выше). | При отсутствии данных достоверного результата обследования за последний 1 месяц |
| 19 | Граждане при призыве в Вооруженные силы*. | При первичном обращении. |
| 20 | Лица, подлежащие обязательным и внеочередным медицинским осмотрам*. | При первичном обращении и далее в соответствии с нормативными документами Министерства здравоохранения Республики Беларусь. |

*на амбулаторном приеме

4. Иммуноблоттинг

| | | |
|---|--|--------------------------|
| 1 | Сомнительные или противоречивые результаты трепонемных тестов. | При первичном обращении. |
| 2 | Диагностика раннего и позднего врожденного сифилиса. | При первичном обращении. |

ЛИТЕРАТУРА

1. Инструкция по лабораторной диагностике сифилиса. : приказ М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 20.10.2020, №1105. – Минск, 2020. – 58 с.
2. Панкратов О.В. Сифилис у беременных и детей / О.В. Панкратов. – Минск : Ипати, 2007. – 360 с.: ил.
3. Schaudinn, F. R. Vorläufiger Bericht über das Vorkommen von Spirochaeten in syphilitischen Krankheitsprodukten und bei Papillomen / F. R. Schaudinn, E. Hoffmann // Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamtes (Berlin). – 1905. - Vol. 22. – P. 527-534.

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|----|
| ВВЕДЕНИЕ | 3 |
| ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА | 4 |
| МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА | 7 |
| ОБСЛЕДОВАНИЕ ПАЦИЕНТОВ НА СИФИЛИТИЧЕСКУЮ ИНФЕКЦИЮ ПРИ ОБРАЩЕНИИ ЗА МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩЬЮ. ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОЗА..... | 10 |
| НЕКОТОРЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА..... | 13 |
| ОТБОР, ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ ПРОБ ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ ПАЦИЕНТОВ НА СИФИЛИТИЧЕСКУЮ ИНФЕКЦИЮ | 15 |
| ВОЗМОЖНЫЕ СОЧЕТАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ НА СИФИЛИС И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ИХ РЕЗУЛЬТАТОВ..... | 56 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ 1 | 60 |
| ЛИТЕРАТУРА | 64 |

Учебное издание

Панкратов Олег Валентинович
Шилова Александра Анатольевна

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА

Учебно-методическое пособие

В авторской редакции

Подписано в печать 14.11.2022. Формат 60x84/16. Бумага «Снегурочка».

Печать ризография. Гарнитура «Times New Roman».

Печ. л. 4,06. Уч.-изд. л. 3,10. Тираж 50 экз. Заказ 184.

Издатель и полиграфическое исполнение –

Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/136 от 08.01.2014.

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 3/1275 от 23.05.2016.

220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корп. 3.