

Медицинская многопрофильная
диагностическая
лаборатория СИНЛАБ

**«Лабораторная
диагностика
ИППП»**



Дерматовенеролог Анна Л. Дамарад

Гродно, 4 мая 2017

Методы диагностики ИППП:

- Метод амплификации нуклеиновых кислот (МАНК):
 - ПЦР в режиме реального времени
- Бактериологический экспресс - метод
 - ИФА
 - НИФ
 - Иммуоблот
- Электрохемилюминесцентный иммуноанализ (ECLIA)
 - Микроскопический

Результат исследования:

Антитела к возбудителю	Возбудитель
ИФА	МАНК:ПЦР
НИФ	Бактериологическое исследование
Иммуноблот	
Электрохемилюминесцентный иммуноанализ (ECLIA)	

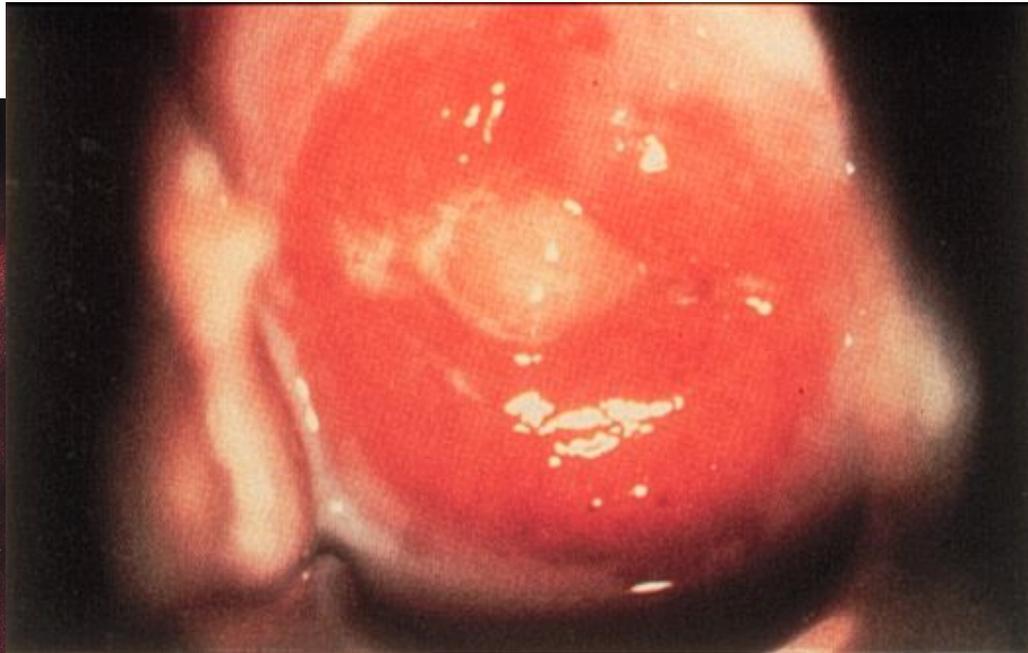
Если в клинико-диагностической лаборатории имеются различные методы, то лучше проводить параллельные исследования

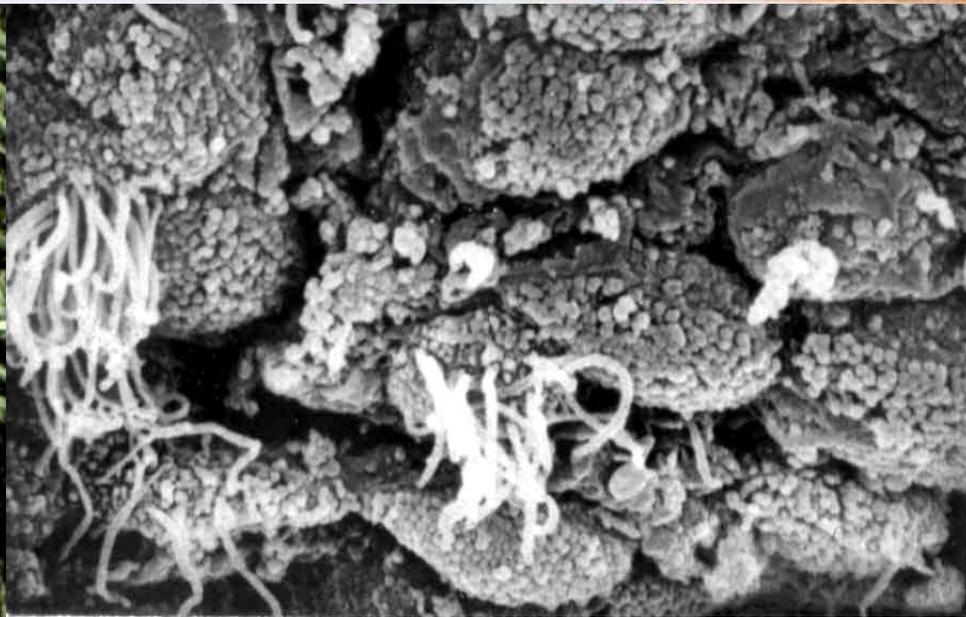
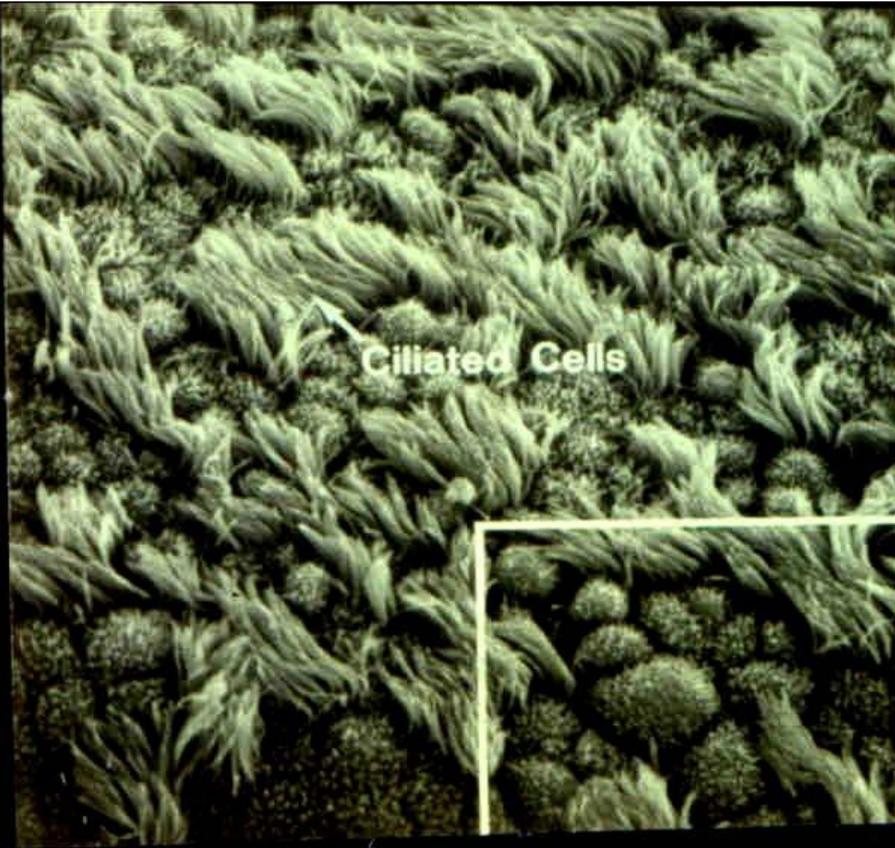
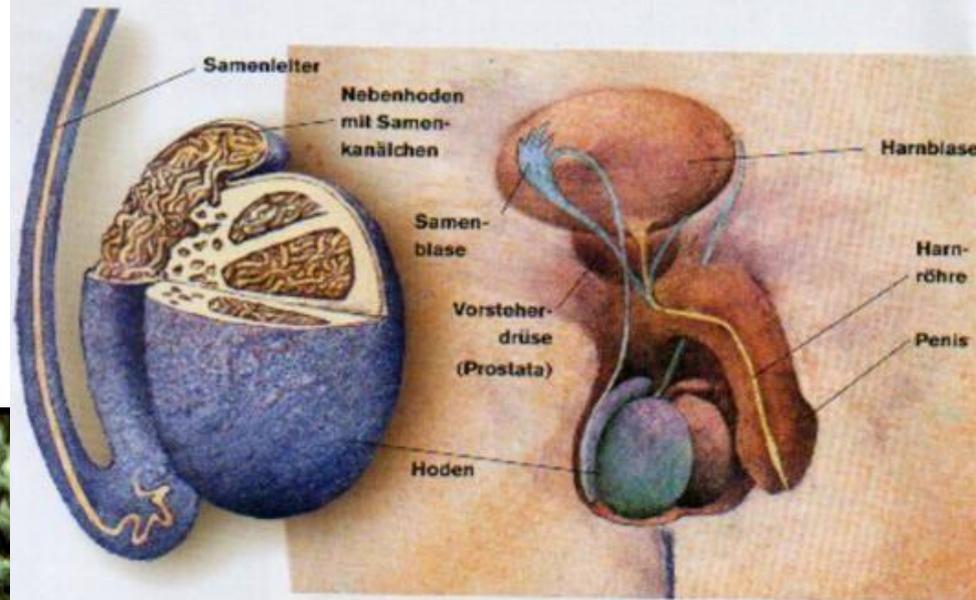
Инфекции, передаваемые половым путем

	Инфекционный агент	Болезнь
Bacterial	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cervicitis, urethritis, pelvic inflammatory disease, proctitis, epididymitis, pharyngitis, conjunctivitis
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Serovars D-K: cervicitis, urethritis, pelvic inflammatory disease, proctitis, epididymitis, conjunctivitis Serovars L1,2,3: lymphogranuloma venereum (inguinal or anorectal syndrome)
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Cervicitis, urethritis, pelvic inflammatory disease
	<i>Treponema pallidum</i>	Syphilis
	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Chancroid
	<i>Klebsiella granulomatis</i>	Granuloma inguinale (Donovanosis)
Viral	Herpes simplex virus	Genital or labial herpes
	Human papilloma virus	Genital warts, genital tract cancers
	Human immunodeficiency virus	AIDS
	Hepatitis A,B,C	Hepatitis
Protozoal	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Vaginitis

Клинические проявления вызываемые *S. trachomatis*

	Local Infection	Complication	Sequelae
<i>Men</i> →	Conjunctivitis Urethritis Proctitis	Epididymitis Reiter's syndrome (rare)	Infertility (rare) Chronic arthritis (rare)
<i>Women</i> →	Conjunctivitis Urethritis Cervicitis Proctitis	Endometritis Salpingitis Perihepatitis Reiter's syndrome (rare)	Infertility Ectopic pregnancy Chronic pelvic pain Chronic arthritis (rare)
<i>Infants</i> →	Conjunctivitis Pneumonitis Pharyngitis Rhinitis	Chronic lung disease?	Rare, if any





Диагностика *Chlamydia trachomatis*

**ПЦР в режиме
реального времени:
детекция ДНК
*Chlamydia trachomatis***
путем амплификации
специфического
фрагмента ДНК

**Мультипрайм:
определение ДНК**
Mycoplasma hominis,
Mycoplasma genitalium,
Ureaplasma spp,
Chlamydia trachomatis

ИФА IgA,G,M
Euroimmun. Качество
антигена
гарантирует высокую
специфичность
набора и отсутствие
перекрестной
реактивности

Генитальные микоплазмы

Вид	Уретрит (мужчины)	Цервицит женщины	Бакт ваг	Эндометрит и/или ВЗОМТ	Преждевременные роды	Бесплодие (женщины)
M. hominis	-	-	++++	+/-	-	-
M.genitalium	++++	+++	-	++	+/-	+
M.pneumoniae	-	-	-	-	-	-
U.urealyticum	+	?	?	?	?	?
U.parvum	-	?	?	?	?	?

Для всех перечисленных микроорганизмов – основное место колонизации – генитальный тракт, кроме M. pneumoniae, для которой респираторный тракт первичное место колонизации.

++++, сильная ассоциация, +, слабая ассоциация;

+/-, имеется ассоциация в одних исследованиях, но нет в других;

-, нет ассоциации или негативная ассоциация

Микоплазмоз (только когда обнаружена *Mycoplasma genitalium*)

**ПЦР в режиме
реального времени**

Детекция ДНК
*Mycoplasma
genitalium*, путем
амплификации
специфического
фрагмента ДНК

Мультипрайм:

определение ДНК

Mycoplasma hominis,

***Mycoplasma
genitalium*,**

Ureaplasma spp,

Chlamydia

trachomatis

Диагностика условно-патогенных микроорганизмов

ПЦР:
мультипрайм

ДНК *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*,
Ureaplasma spp, *Chlamydia trachomatis*

Бактериоло-
гический
экспресс-
метод

Определение ***Ureaplasma species*** (*parvum*+*urealyticum*) и ***Mycoplasma hominis*** с количеств. оценкой возбудителя ($<10^4$, $\geq 10^4$) и чувств. к АБ

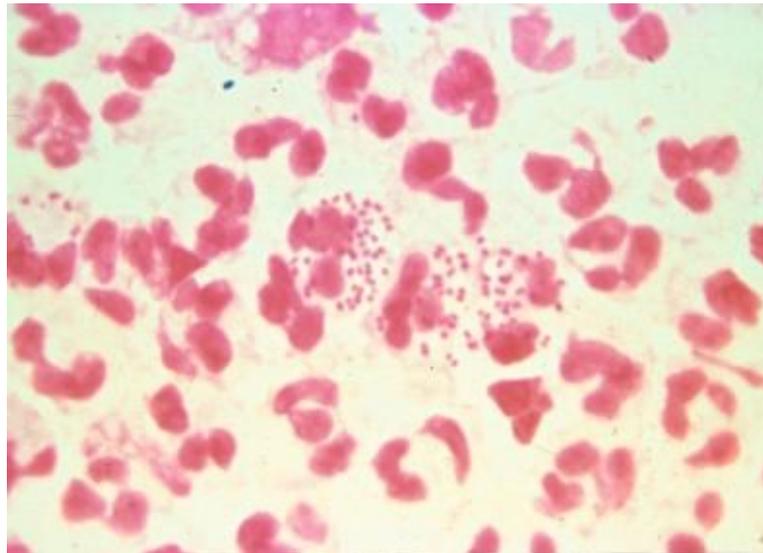
Микробный пейзаж: ***Candida spp.***, *Proteus species*,
Pseudomonas spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*
agalactia (Group B), *Enterococcus faecalis*, *Gardnerella vaginalis*,
Trichomonas vaginitis, ***Ureaplasma urealyticum***, ***Mycoplasma***
hominis с полуколичественной оценкой ***Mycoplasma***
hominis/Ureaplasma urealyticum и их чувств. к АБ

Диагностика гонококковой инфекции

для определения ДНК *Neisseria gonorrhoeae* FL

доступны методы:

- ✓ ПЦР в режиме реального времени
- ✓ микроскопический метод (Gram-negative intracellular diplococcus)



Диагностика трихомониаза

для детекции ДНК *Trichomonas vaginalis*

доступны методы:

- ✓ ПЦР в режиме реального времени
- ✓ микроскопический метод



Диагностика сифилиса

RPR (МРП) – экспресс-метод – это реакция быстрых плазменных реагенов как нетрепонемный тест для скрининга на сифилис



трепонемные тесты:

ИФА IgM и IgG

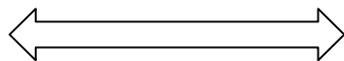
иммуноблот



Флороценоз (бактериальный вагиноз)

ДНК Bacteria, ДНК
Lactobacillus spp.

**Количественная
детекция ДНК**



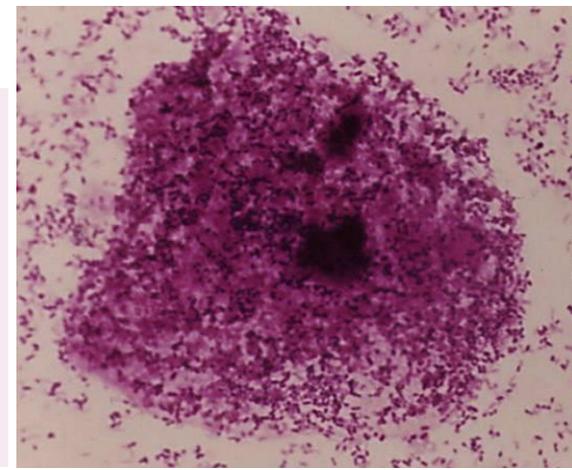
Atopobium vaginae
Gardnerella vaginalis,
Prevotella spp.,
Mycoplasma hominis,
Mobiluncus spp.

с или без



Amsel:

ключевые клетки
уровень pH >4, 5
гомогенные бело-серые
жидкие выделения,
рыбный запах



Флороценоз (аэробный вагинит)

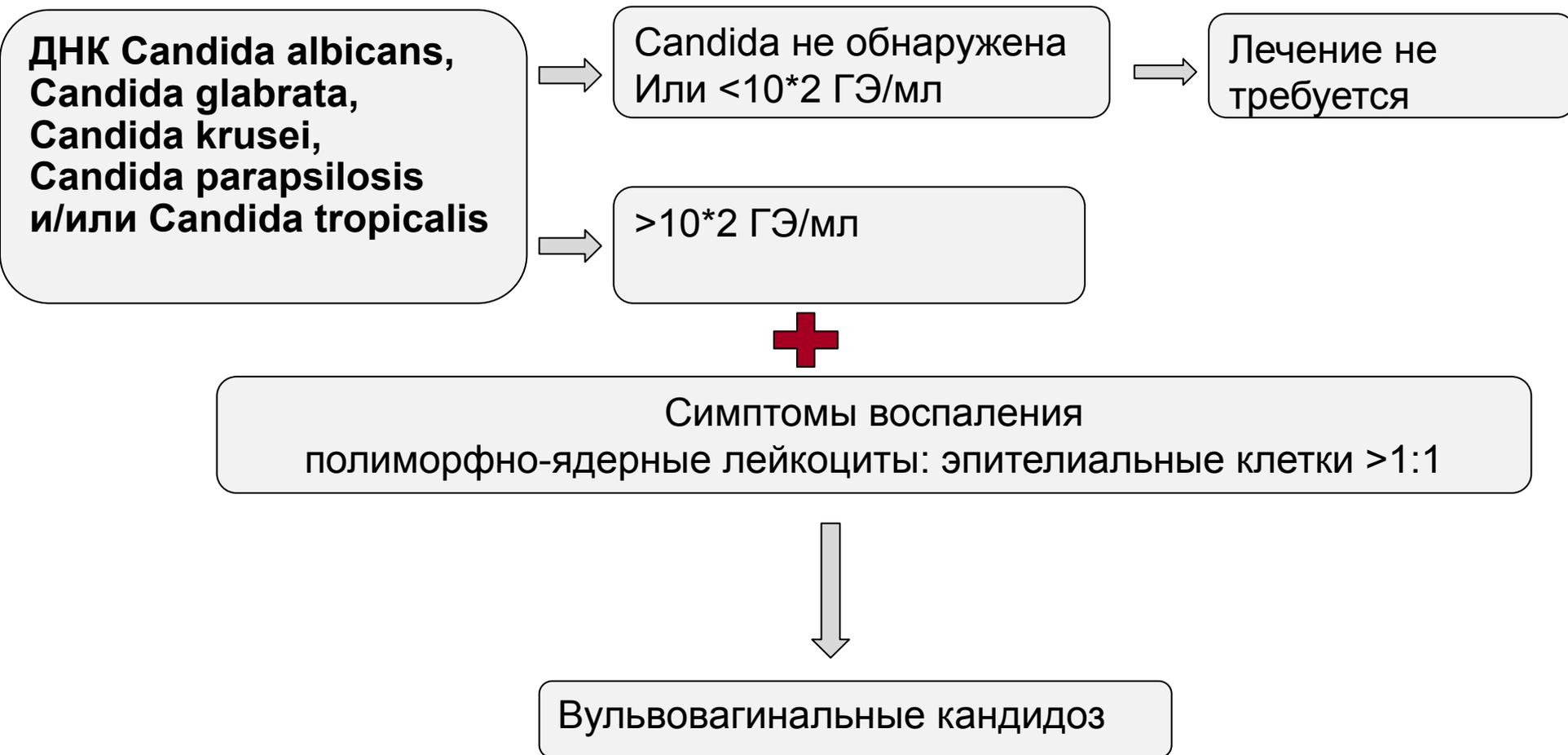
Lactobacilli ↓
pH ↑
Доминируют аэробная микрофлора из кишечника

ДНК Bacteria,
ДНК Lactobacillus spp.

**Количественная
детекция ДНК**

ДНК Enterobacteriaceae,
ДНК Streptococcus spp.,
ДНК Staphylococcus spp.

Кандидоз



Детекция HPV (ВПЧ):

ПЦР в режиме реального времени

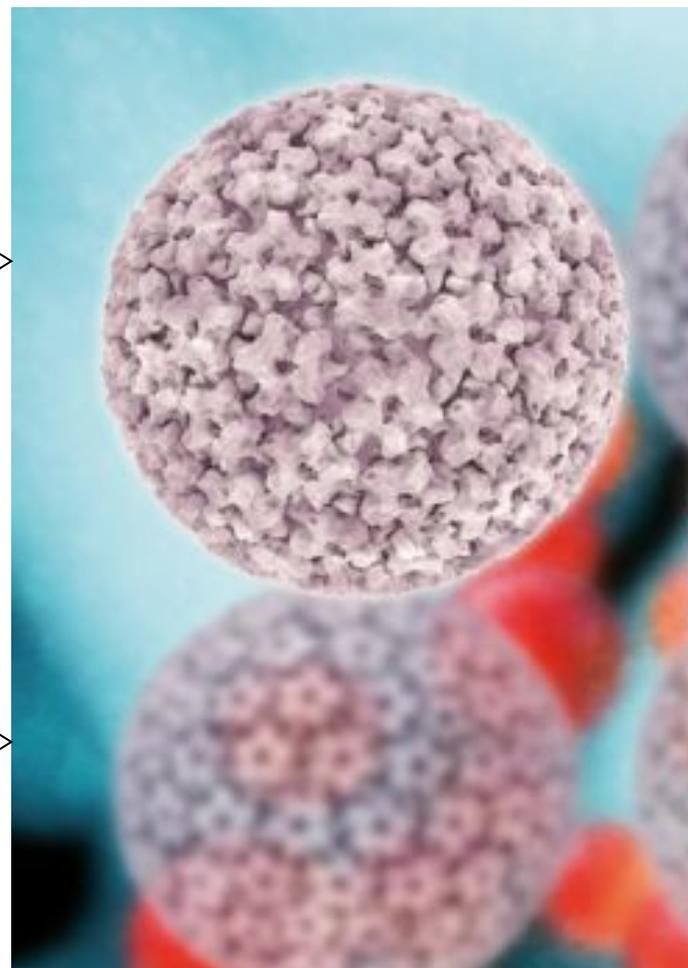
Качественная Детекция
ДНК ВПЧ ВКР

(HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39,
45, 52, 58, 59, 67 типов)

ПЦР в режиме реального времени

Количественная Детекция
ДНК ВПЧ ВКР

(HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45,
51, 52, 56, 58, 59, типов)



Рекомендации для скрининга по цервикальному раку

Huh et al.

Journal of Lower Genital Tract Disease • Volume 19, Number 2, April 2015

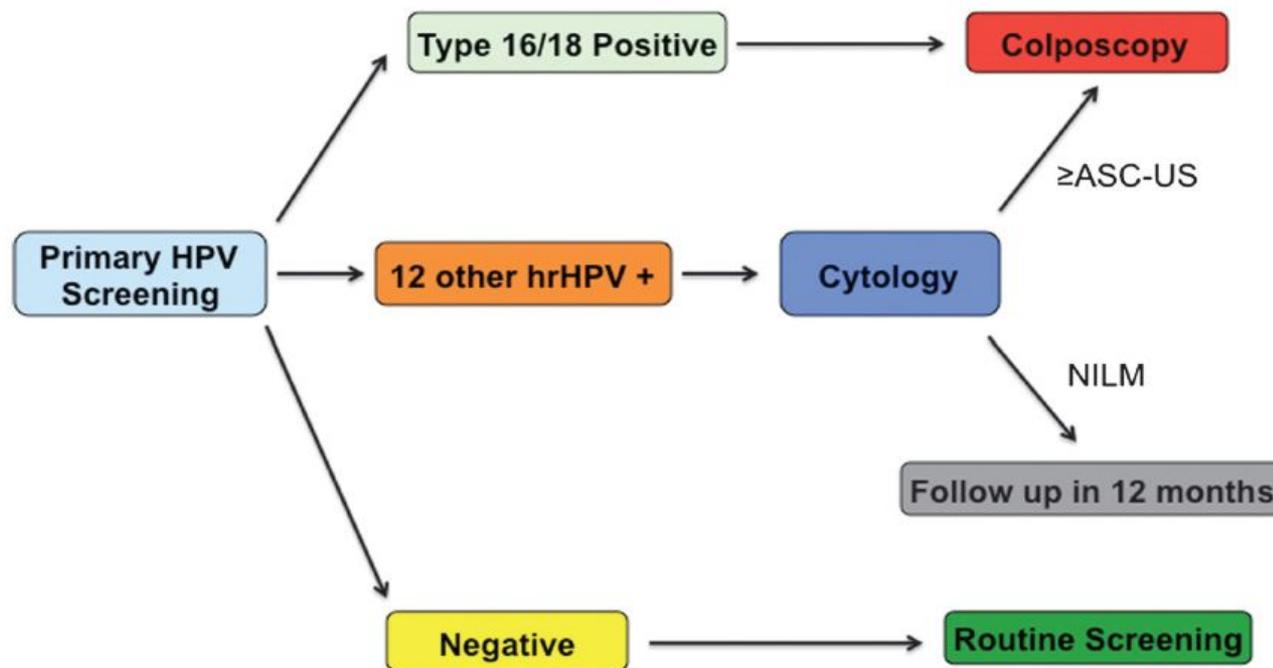


FIGURE 1. Recommended primary HPV screening algorithm. HPV, human papillomavirus; hrHPV, high-risk human papillomavirus; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy.

Скрининг по цервикальному раку

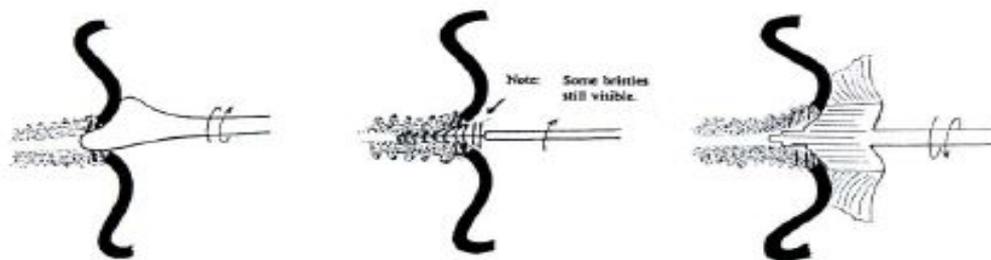
Co-testing:

ДНК ВПЧ

+

Pap-test (Папаниколау тест)

цитологическое исследование эпителия экто- и эндоцервикса



Детекция вирусов HSV (ВПГ), CMV (ЦМВ):

- ДНК ВПГ 1/2 типа (HSV 1/2) ПЦР в режиме реального времени
- Определение IgM и IgG к ВПГ 1/2, ВПГ 2 методом ИФА

- ДНК CMV методом ПЦР в режиме реального времени
- Определение IgM и IgG к CMV методом ИФА



Диагностика вирусных гепатитов HBV (hep B) и HCV (hep C)

Методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа:

Определение антигенов hep B:

- HBsAg
- HBeAg

Определение IgG, IgM к антигенам hep B:

- anti-HBsAg
- anti-Hbe
- anti-HBcore

Методом ПЦР в режиме реального времени:

- качественная детекция ДНК hep B
- количественная детекция ДНК hep B

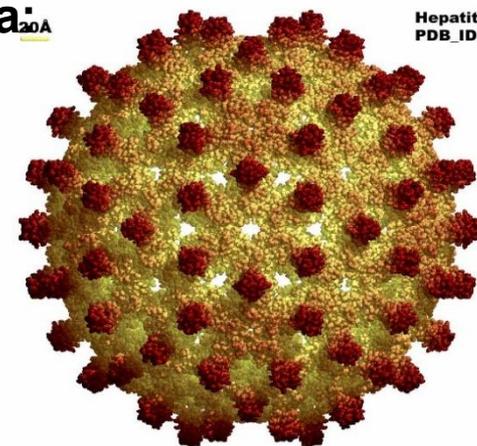
Методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа: Определение антител к hep C:

- anti-HCV

Методом ПЦР в режиме реального времени:

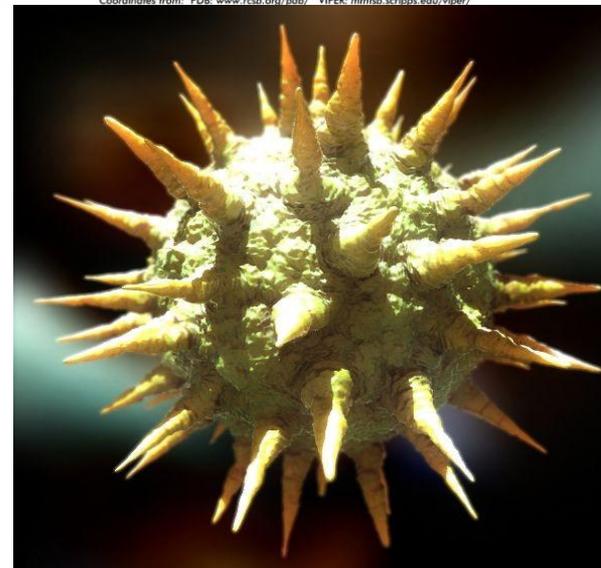
- качественная детекция РНК HCV
- количественная детекция РНК HCV
- генотипирование субтипов РНК HCV
- прогноз эффективности терапии гепатита C (IL-28)

ICTV 8th Report - images by Jean-Yves Sgro ©2004
images at virology.wisc.edu/virusworld



Hepatitis B virus
PDB_ID: 1QGT

Coordinates from: PDB: www.rcsb.org/pdb/ VIPER: mmmb.scripps.edu/viper/



Достоинства ПЦР в режиме реального времени

- Регистрация накопления продуктов реакции и построение калибровочных кривых по реальным процессам происходит в реальном времени
- Автоматическая регистрация и интерпретация результатов
- Возможность количественной оценки реакции
- Не зависит от падения титра жизнеспособных возбудителей в процессе хранения и транспортировки материала



Возможные ошибки при ПЦР-диагностике

- **Преаналитический этап**
- **Аналитический этап**
- **Постаналитический этап**



Преаналитический этап

- Погрешности при взятии биологического материала
- Нарушение условий хранения и транспортировки материала (при нарушении температурного режима возможны ошибки на 20%)



Аналитический этап

- Каждая тест-система имеет свой порог чувствительности
- Изменчивость микроорганизма/вируса
- Технологические ошибки



Постаналитический этап – оценка результата ПЦР

- Положительный результат – свидетельствует о наличии в исследуемом материале фрагментов генома возбудителя, но не всегда о его жизнеспособности
- Первое контрольное исследование методом ПЦР рекомендуется проводить не ранее чем через 35-45 дней после окончания лечения
- Для оценки состояния микрофлоры урогенитального тракта исследование через 1-2 недели после проведения антибактериальной терапии может привести к ложному результату

Интерпретация результатов ПЦР

- Необходимо учитывать особенности персистенции и элиминации возбудителя
- Необходимо оценивать прогностическую значимость положительного результата ПЦР (инфицированность/инфекционный процесс).
ПЦР не позволяет установить стадию инфекционного процесса
- Результаты различных методов исследования могут не совпадать

Несовпадение результатов различных методов исследования

ПЦР + ИФА –

- Серологическое окно
- Иммунологическая толерантность
- Генетически обусловленная серонегативность

Несовпадение результатов различных методов исследования

ПЦР – ИФА +

- Иммунологический след
- Зависимость результатов ПЦР от используемого материала
- Антигенные перекресты между белками различных возбудителей

Подготовка пациентов **общие рекомендации**

- за месяц до взятия материала прекратить прием химиопрепаратов и лечебные процедуры (не принимать антибиотики - 1 месяц, не вводить свечи – 1 неделю)
- за 1-3 дня до исследования не рекомендуются сексуальные контакты
- в день забора материала личную интимную гигиену осуществлять без мыльно - моющих средств
- мазки сдаются в дни свободные от менструации
- воздержаться от мочеиспускания в течение 1 – 2 часов
- женщины не должны проводить спринцевание
- мазки сдаются до проведения мануального исследования

**Диалог между лечащим врачом и врачом
лабораторной диагностики – залог успеха в
постановке правильного диагноза**

**Консультации врачей различных специальностей по
интересующим вопросам о тестах**

+375 (17) 294-90-43

<http://synlab.by>

Спасибо за внимание!

Г. Гродно, ул. Гаспадарчая, 19 / тел. 44-44-20