

БЫСТРЫЕ ТЕСТЫ В ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИЙ ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ

Р.Ф.Айзятулов, В.В.Юхименко, Н.В.Ермилова

Донецкий национальный медицинский университет им.М.Горького

Ключевые слова: инфекции, передающиеся половым путем; эпидемиология; диагностика; быстрые тест-системы.

Актуальность темы.

В последние годы наблюдается значительный рост заболеваемости инфекциями, передающимися половым путем (ИППП), которые представляют серьезную проблему современной медицины [1, 2, 5, 8, 11, 12]. В Украине ежегодно регистрируется более 400 тысяч новых случаев сифилиса, гонореи, хламидиоза, герпеса, микоплазмоза, генитального кандидоза и трихомониаза [3, 9, 10, 12]. По разным оценкам статистических данных ИППП фиксируются от 30% до 40% реального количества случаев, что очевидно связано с увеличением числа скрытых форм и также тем, что отдельные группы населения не получают надлежащей врачебной помощи [3, 9, 10, 12]. В Украине для диагностики ИППП появилось достаточное количество новых диагностических тест-систем как зарубежных, так и отечественных фирм производителей, которые обладают высокой надежностью и удобством в работе и позволяют в короткие сроки без привлечения дополнительного оборудования и персонала определить в большинстве случаев урогенитальные инфекции. В регионах, где отсутствуют специализированные лаборатории, возникает необходимость применения простых в выполнении, но достаточно чувствительных методов лабораторной диагностики. Таким требованиям отвечают так называемые быстрые тесты - простые в использовании диагностические наборы, которые позволяют получить результат исследования в течение нескольких минут. Они являются альтернативой использованию классических диагностических тест-систем, так как не нуждаются в применении дорогостоящего оборудования и высококвалифицированного персонала. В разных странах мира, в том числе и высоко развитых, такие тесты давно и успешно применяются, когда нужно быстро, достоверно и недорого получить результат.

Одним из быстрых методов диагностики является иммунохроматографический метод, который реализуется чаще в виде диагностических полосок, а также кассет или мембран и характеризуется высокой чувствительностью и простотой выполнения, но в большинстве случаев дающий качественную, а не количественную оценку [4, 6, 7, 10]. В процессе исследования происходит перемещение исследуемого вещества и маркерного реагента. При позитивном результате анализа в определенном месте тест-полоски появляется окрашенная зона. Иммунохроматографический метод простой в проведении, не требует длительных затрат времени и дорогого оборудования, является быстрым анализом для качественного выявления возбудителей с высокой чувствительностью и специфичностью [4, 6, 7, 10].

Материалы и методы исследования.

Метод иммунохроматографии основан на особенном свойстве антител связываться с антигеном специфическим (то есть избирательным) образом. Это означает, что каждое антитело узнает специфический антиген и связывается только с ним. На этой уникальной особенности антител и основаны все иммунологические методы анализа, в том числе и иммунохроматографический. Причем определяемым «антигеном» может служить и определяемое в биоматериале антитело к инфекционному агенту или аутоантитела, тогда остальные используемые в тесте антитела будут являться антиантителами. Результаты определяются ви-

зуально в период с 10-й по 15-ю минуту. Иммунохроматографические тесты позволяют получить представление о причине заболевания без оборудования и специальных навыков и в самые короткие сроки приступить к лечению выявленной патологии, тем самым предупреждая ее дальнейшее распространение.

В иммунохроматографических тестах используется 3 типа антител [4, 6, 7, 9, 10]:

1. Подвижные моноклональные антитела к исследуемому антигену или антителу, конъюгированные ("сшитые") с коллоидным золотом - красителем, который можно легко идентифицировать даже в самых малых концентрациях. Эти антитела нанесены вблизи участка погружения тест-полоски в физиологическую жидкость (мочу, кровь).
2. Поликлональные антитела к исследуемому антигену или антителу, жестко иммобилизованные в тест-зоне полоски.
3. Вторичные антитела к моноклональным антителам, жестко иммобилизованные в контрольной зоне тест-полоски.

Быстрые диагностические тесты могут использоваться в следующих лечебно-профилактических мероприятиях [4, 6, 7, 9, 10]:

- Эпидемиология – быстрые тесты могут быть использованы для наблюдения за опасными болезнями, прежде всего – инфекционными, с целью разработки эффективных программ в сфере здравоохранения.
- Мониторинг – быстрые тесты могут использоваться для наблюдения за состоянием здоровья отдельно взятых людей.
- Постановка диагноза – быстрые тесты могут быть использованы для определения, подтверждения, или опровержения диагноза у больных.
- Наблюдение за пациентами – быстрые тесты могут быть использованы для корректного назначения лечения и общего наблюдения за здоровьем пациента.

Преимущества экспресс-тестов [4, 6, 7, 9, 10]:

- Простота и удобство - позволяет получить результат (анализ и первичное представление о причине заболевания), без оборудования и специальных навыков.
- Оперативность – позволяет быстро поставить диагноз и в самые короткие сроки приступить к лечению выявленного заболевания, предупреждая его дальнейшее распространение.
- Надежность - достоверность тестов достигает 99,9%, при этом каждый тест имеет встроенный внутренний контроль.
- Экономичность - минимальные затраты на приобретение теста и экономия времени на проведение обследования.
- Анонимность - особенно важно при выявлении ИППП.
- Своевременность - результат можно получить за считанные минуты.
- Удобство – быстрые диагностические тесты не требуют специальных условий хранения (хранятся при комнатной температуре).

Принцип действия иммунохроматографического теста заключается в том, что при его погружении в физиологическую жидкость она начинает двигаться вдоль полоски как при тонкослойной хроматографии. Подвижной фазой является физиологическая жидкость. Вместе с ней движутся и антитела с красителем. Если присутствует исследуемый антиген (инфекционный), то происходит его связывание как с первым, так и со вторым типом антител. При этом антитела с красителем накапливаются вокруг антител, жестко иммобилизованных в тест-зоне полоски, что проявляется в виде яркой окрашенной полосы. Свободные антитела с красителем продвигаются дальше вдоль полоски и взаимодействуют с вторичными антителами в контрольной зоне, где наблюдается вторая окрашенная (контрольная) полоса. Взаимодействие (наличие окрашенной полосы) в контрольной зоне должно проявляться всегда (если анализ проведен правильно), независимо от присутствия исследуемого антигена в исследуемом субстрате. Результаты определяются визуально через несколько минут.

В клинике кожных и венерических болезней Донецкого национального медицинского университета им.М.Горького проводилось обследование пациентов на гонорею, хламидиоз, сифилис с помощью быстрых тестов компании «Фармаско». Полученные результаты совпадали в 99,2% случаев с другими лабораторными методами диагностики.



CITO TEST Chlamydia (быстрый тест для диагностики хламидиоза).

Быстрый (10 мин.) иммунохроматографический тест для определения антигена *Chlamydia trachomatis* в выделениях у женщин из цервикального канала и у мужчин из уретры и в мужской моче.

ПРИНЦИП ТЕСТА. Специфические к антигену *C.trachomatis* антитела наносятся в зоне тестовой линии на тест-полоску. Жидкость, содержащая антигены, взаимодействует с антителами *C.trachomatis* на мембране и образует красную линию в зоне тест-линии (Т) - *положительный* результат. Отсутствие линии указывает на негативный результат. В качестве контроля, другая красная линия должна всегда появляться в зоне контроля (С) подтверждая, что был нанесен достаточный объем исследуемого образца и состоялось капиллярное затекание мембраны.

ТЕСТ-НАБОР: Тест-кассета. Пластмассовые пробирки. Колпачки с отверстием. *Стерильные женские цервикальные зонды.* Реагент А. Реагент В. Подставка. Инструкция. *Не предоставленные материалы:* Таймер. Посуда для сбора мочи (для образцов мочи мужчин). Центрифуга (для образцов мочи мужчин). Стерильные уретральные зонды для мужчин. *Позитивный контроль. Негативный контроль.*

ПРАВИЛО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ: Для диагностики *in vitro*. Не использовать по окончании срока годности. Не жечь, не пить, не есть в месте нахождения образцов и тест-устройств. Обращаться с образцами, как с потенциально инфицированными. Придерживаться мер осторожности относительно микробиологического риска и выполнять стандартные мероприятия по уничтожению образцов. При работе необходимо надевать защитную одежду (халат, перчатки и очки). Влажность и температура могут повлиять на результаты теста. Для сбора образца из цервикального канала необходимо использовать только стерильные зонды.

ХРАНЕНИЕ: Тест необходимо хранить при комнатной температуре или в холодильнике (+2- +30°C). Тест хранит стабильность к окончанию срока годности (указан на пакете). Тест-устройство должен находиться в запаянном пакете до использования.

Не замораживать. Не использовать по окончании срока пригодности.

Забор материала у женщин: При взятии материала из шейки матки вначале ватным тампоном, смоченным изотоническим раствором натрия хлорида и пинцетом удалить слизистую пробку, после чего под визуальным контролем ввести зонд в цервикальный канал до исчезновения его ватного кончика из поля зрения (позволяет захватить цилиндрические эпителиальные клетки, содержащие *Chlamydia trachomatis*). Зонд необходимо вращать 15-20 сек, вытянуть, не соприкасаясь с экзоцервикальными и влажными клетками; поместить в пробирку при немедленном тестировании. При наличии обильных гнойных выделений диагностика хламидий может представлять определенные трудности. В этих случаях забор патологического материала необходимо проводить после мочеиспускания. Чувствительность

Недействительный: Контрольная линия не проявляется. Было использовано недостаточное количество образца или неправильно проводилась процедура тестирования. Повторить тест, используя новую тест-кассету.

ОГРАНИЧЕНИЕ. Не определяется количественное содержание и уровень антигена *S.trachomatis*. Тест указывает только на наличие антигена *S.trachomatis* в образце. Количество микроорганизмов в образце влияет на определение *S.trachomatis* (связано с техникой забора) и факторами (возраст, наличие в анамнезе ИППП, симптомов и др.). Результаты рассматриваются со всей информацией. Невозможно выявить эффективность проведенной антимикробной терапии.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ. Тест имеет высокую специфичность (можно сравнить с тестами на культуре, ИФА).

Для образцов, собранных зондом из цервикального канала: *относительная чувствительность* - 93.3% и *специфичность* - 97.7%.

Для образцов, собранных зондом из мужской уретры: *относительная чувствительность* - 86.7% и *специфичность* - 92.9%.

Для образцов мужской мочи: *относительная чувствительность* - 81.5% и *специфичность* - 91.3%.

Перекрестная чувствительность. Антитела для определения *S.trachomatis* (мазок/моча) взаимодействуют с 4 серовариациями хламидий. Штаммы *S.psittaci* и *S.pneumoniae* еще не испытывались.

СИТО TEST Gonorrhoea (быстрый тест для диагностики гонореи).

Иммунохроматографический тест предназначен для визуального выявления антигена гонореи в выделениях. В тесте задействованы моноклональные и поликлональные антитела для определения гонореи. Чувствительность и специфичность выше, чем в обычных методах (длительное выращивание культур образца). Прием каких-нибудь медикаментов не влияет на результат. Данный тест является идеальным для скрининга образцов, которые имеют 1×10^5 бактерий/мл.

ТЕСТ-НАБОР: Тест-кассета. Пластмассовые пробирки. Колпачки с отверстием.

Стерильные женские цервикальные зонды. Реагент А. Реагент В. Подставка. Инструкция.

МЕТОДИКА. Нанести пипеткой 3 капли образца, приготовленного, согласно инструкции, в лунку на кассете. Результат учитывать через 10 минут (не принимаются во внимание результаты после 30 мин).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ



Позитивный: По одной розовой линии в зоне контроля (С) и в зоне теста (Т).

Негативный: Только одна линия в зоне контроля (С). Нет линии в зоне теста (Т).

Тест не действителен: Контрольная линия отсутствует - недостаточное количество образца или некорректная техника тестирования. Повторить тест с новой тест-кассетой.

Хранить тест-касеты при температуре (+2 - +30°C) в запаянных пакетах в темном, сухом месте. **Не замораживать!** Предназначается для диагностики in-vitro. При работе использовать перчатки для сбора образцов и анализа. Не использовать по окончании срока годности и второй раз. Четкий результат теста на протяжении 10 мин. Тест-набор простой в применении.

нии, не нуждается в дополнительном оборудовании. Чувствительность и специфичность выше обычных методов. Относительная чувствительность – 91,5% (цервикальный мазок) и 89,2% (мужской уретральный мазок). Относительная специфичность – 96,1% (цервикальный мазок) и 96,5% (мужской уретральный мазок).

CITO TEST Syphilis (для диагностики сифилиса, качественного выявления антител к *Treponema pallidum* в цельной крови, сыворотке и плазме).

В последние годы отмечаются современные особенности течения сифилитической инфекции. Наблюдается укорочение или удлинение инкубационного периода. Наступает ранняя позитивация стандартных серологических реакций. Увеличиваются случаи раннего нейросифилиса, висцерального сифилиса, количества скрытых форм сифилиса и форм с не выраженной клинической картиной со скудными проявлениями на коже и слизистых оболочках. Наметилась тенденция к проникновению сифилиса в «благополучные» слои населения. Возрастает число инфицированных беременных и опасность врожденного сифилиса. Поэтому, экспресс-методы необходимо широко применять при массовых скрининговых обследованиях пациентов на сифилис в клинико-диагностических лабораториях, соматических отделениях и больницах, у беременных, urgentных пациентов в хирургических отделениях, а также в группах повышенного риска – наркоманы, проститутки.

ПРИНЦИП быстрого иммунохроматографического анализа. Иммунохроматографический тест CITO TEST Syphilis для диагностики сифилиса является качественным, твердофазным, двухслойным иммуноанализом для выявления антител (IgG и IgM) к *Treponema pallidum* в цельной крови, сыворотке или плазме. Во время тестирования образец цельной крови, сыворотки или плазмы мигрирует по капиллярам мембраны по принципу хроматографии и вступает в реакцию с антигенами *Treponema pallidum*, которые были загодя нанесены на мембрану, в результате чего образуется красная линия. Наличие красной линии на тестовом участке означает позитивный результат, в то время как отсутствие ее означает негативный результат. Красная линия, которая будет всегда появляться на контрольном участке, является контролем выполнения процедуры, указывая, что процедура тестирования выполнена корректно.

СБОР ОБРАЗЦА И ПОДГОТОВКА.

Использование цельной крови из пальца.

1-й вариант. Проколоть кожу стерильным ланцетом, вытереть первую каплю крови и набрать в пипетку приблизительно 50 мкл крови без пузырьков.

2-й вариант. Подвести палец сверху лунки (S) и нанести 2 капли крови в центр лунки или притронуться стекающей каплей лунки (S), избегая контакта пальца с лункой.

Использование сыворотки или плазмы.

Для предотвращения гемолиза быстро отделить сыворотку и плазму. Тест проводится сразу после взятия образца крови.

Образцы сыворотки и плазмы могут храниться 3 дня при температуре +2- +8°C (длгое хранение при температуре ниже -20°C). Венозную цельную кровь можно хранить при температуре +2- +8°C (но использовать для теста необходимо на протяжении 2 дней после сбора). Не замораживать образцы цельной крови и взятую из пальца кровь использовать сразу. Перед тестированием необходимо довести образцы до комнатной температуры. Образцы разморозить и тщательно перемешать перед тестированием. Образцы нельзя замораживать и размораживать несколько раз. При перевозке образцы упаковать согласно санитарным требованиям.

Процедура тестирования. Довести тест-кассету, образцы, буфер до температуры +15 - +30°C. Открыть запаянный пакет и использовать на протяжении часа.

Для образцов сыворотки и плазмы:

Держа пипетку вертикально, поместить 3 капли сыворотки или плазмы (приблизительно 75 мкл) в лунку (S) на кассете и отметить время (см. рис).

Для образцов венозной крови:

Держа пипетку вертикально, поместить 1 каплю цельной венозной крови (около 50 мкл) в лунку (S) на кассете, потом необходимо добавить 1 каплю буфера (приблизительно 40 мкл) и отметить время (см. рис).

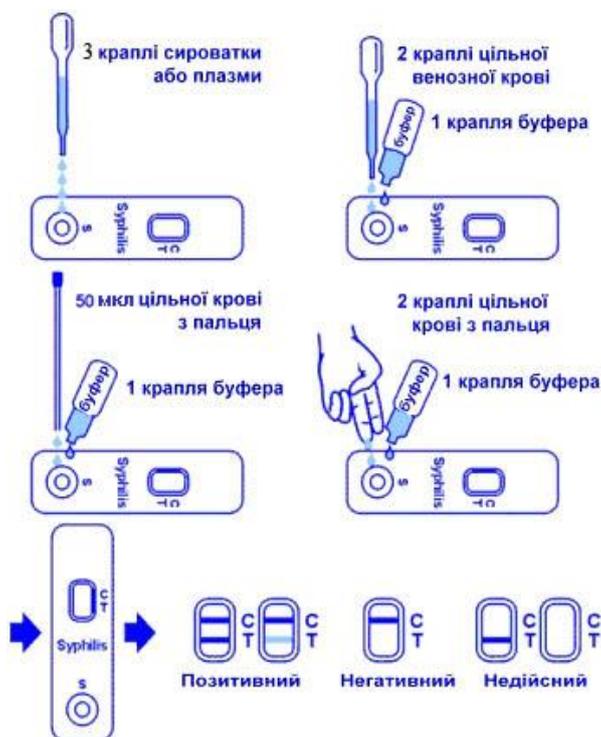
Для образцов цельной крови из пальца:

Наполнить пипетку и выдавить около 50 мкл образца цельной крови из пальца в лунку (S), добавить 1 кап. буфера (около 40 мкл) и отметить время.

Метод стекающей капли: 2 капли крови из пальца (около 50 мкл) помещается в лунку (S) на кассете, добавить 1 каплю буфера (около 40 мкл) и отметить время (см. рис).

Дождаться появления красной линии или линий. Результат учитывается через 10 мин. Не принимать во внимание результаты после 30 мин.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ



Позитивний: 2 четкие линии красного цвета. Одна линия должна проявиться в зоне контроля (С), а другая в зоне теста (Т).

**Внимание:* Яркость линии в зоне (Т) меняется в зависимости от концентрации ТР. Линия красного оттенка в зоне (Т) - как позитивный результат.

Негативний: Только одна красная линия появляется в зоне контроля (С). Линия красного или розового цвета отсутствует в зоне теста (Т).

Недействительный: Контрольная линия отсутствует - недостаточное количество образца или неверная процедура. Повторить тест с новой тест кассетой.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА. Тест имеет внутренний контроль. Красная линия (проявляется в зоне контроля С) является внутренним контролем (наличие подтверждает использование достаточного объема образца и соблюдение необходимых условий).

ОГРАНИЧЕНИЕ. Предназначен для диагностики *in vitro* для выявления антител *T.pallidum* в образцах и является качественным (не выявляется количество или уровень содержания *T.pallidum*). Указывает только на присутствие антигенов *T.pallidum* в образце и не должен быть единственным критерием для постановки диагноза. Результаты теста должны учитываться с клинической картиной. Если результат негативный, а симптомы имеются, ре-

комендується додаткове тестування, використовуючи інші клінічні методи. Отриманий негативний результат не виключає можливості присутності інфекції *T.pallidum*.

Чувствительність. Результати порівнювалися з показателями ведучого тесту на сифіліс FTA-ABS з використанням одних і тих же зразків і вказують на відносну чутливість 99,7% і специфічність 99,6%. Антиген в тесті має високу специфічність до антитілам TP в цільній крові, плазмі і сироватці. Відносна точність – 99,7%.

Заключення.

Своєчасна діагностика ІППП з допомогою швидких тестів компанії «Фармаско» дозволяє в короткий час правильно встановити діагноз і призначити своєчасно лікування, що дає можливість зменшити кількість ускладнень і рецидивів. Імунохроматографічний метод є надійним і може використовуватися як самостійно, так і в поєднанні з іншими методами діагностики. Її перевагою є простота і зручність проведення, отримання швидкого результату, наочність трактування і висока інформативність. Тому, необхідно ширше проводити скринінгові дослідження з допомогою швидких тестів компанії «Фармаско» у вагітних, у термінових пацієнтів в хірургічних відділеннях, а також в групах підвищеного ризику – наркомани, проститутки.

Список літератури.

1. Айзятұлов Р.Ф. Заболевания, передаваемые половым путем (иллюстрированное руководство). – Донецк: Донеччина, 2000. – 384 с.: ил.
2. Айзятұлов Р.Ф. Сексуально-трансмиссивные заболевания (этиология, клиника, диагностика, лечение). – Донецк: Каштан, 2004. - 400 с.: ил.
3. В.М.Волкославська, О.Л.Гутнев, В.М.Романенко, В.Г.Радіонов. Фактори, що сприяють існуванню венеричних хвороб у дітей та молоді в Україні //Журнал дерматовенерології та косметології ім.М.О.Торсуєва. – 2010. - № 1-2 (20). – С.94-97.
4. Застосування швидких тестів у лабораторній діагностиці інфекційних хвороб (методичні рекомендації). – Київ, 2006. – 33 с.
5. Кожные и венерические болезни: Руководство для врачей в 4-х т. /Под редакцией Ю.К.Скрипкина. – Москва: Медицина, 1996. - Т.4. - 352 с.: ил.
6. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом. – Харків: Факт, 2000. – 120 с.
7. Тест-системы нового поколения для диагностики сифилиса, гонореи, хламидиоза и трихомониаза (методические рекомендации). – Киев, 2002. – 34 с.
8. Мавров Г.І., Нагорний О.Є. Діагностика інфекцій, що передаються статевим шляхом, в групах населення, уразливих стосовно ВІЛ інфекції //Журнал дерматовенерології та косметології ім.М.О.Торсуєва. – 2009. - № 1-2 (18). – С.39-48.
9. Мавров Г.И. Хламидийные инфекции (биология возбудителей, патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика). – Киев, 2006. – 524 с.
10. Мавров И.И., Болотная Л.А., Сербина И.М. Основы диагностики и лечения в дерматологии и венерологии. – Харьков: Факт, 2007. – 792 с.: ил.
11. Скрипкин Ю.К., Шарапова Г.Я., Селицкий Г.Д. Инфекции, передаваемые половым путем. Практическое руководство. – Москва: «МЕДпресс-информ», 2001. – 368 с.
12. Степаненко В.І. Состояние и проблемы дерматовенерологической службы в Украине //Дерматология та венерология. – 2004.–№ 4(26).–С.10–15.

ШВИДКІ ТЕСТИ В ДІАГНОСТИЦІ ІНФЕКЦІЙ ЩО ПЕРЕДАЮТЬСЯ СТАТЕВИМ ШЛЯХОМ

Р.Ф.Айзятұлов, В.В.Юхименко, Н.В.Єрмілова

Представлений огляд літератури по поширеності інфекцій, що передаються статевим шляхом. Описані методики проведення швидких тест-систем компанії «Фармаско» для діагностики хламідіоза, гонореї, сифілісу, які дозволяють швидко встановити правильний діагноз і призначити своєчасне лікування.

RAPID TESTS IN DIAGNOSTICS OF INFECTIONS TRANSMISSIBLE BY SEXUAL WAY

R.F.Aizjatulov, V.V.Yukhymenko, N.V.Yermilova

The review of literature on prevalence of infections transmissible by a sexual way is presented. The methods of conducting of rapid doughs-systems of the «Pharmasco company» for diagnostics of chlamidioza, gonorrhoea, syphilis are described, allowing quickly to set a correct diagnosis and appoint timely medical treatment.

УДК 616.6-022.7.679.882.11:612.015.33

ЕТІОПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ З УСКЛАДНЕНИМИ ФОРМАМИ ХЛАМІДІЙНОЇ ТА МІКОПЛАЗМОВОЇ ІНФЕКЦІЇ

Г.І.Мавров, Л.В.Іващенко, І.М.Нікітенко

ДУ «Інститут дерматології та венерології АМН України»

Ключові слова: хламідіоз, мікоплазмоз, етіопатогенез, клініка, левофлоксацин, лікування, флуконазол, волвіт.

Останнім часом надзвичайне занепокоєння фахівців викликає неухильний зріст числа захворювань, що передаються статевим шляхом, особливо так званих "прихованих" інфекцій хламідій, уреоплазм, мікоплазм. Це зв'язане, з одного боку, зі зміною сексуальних стереотипів і форм поведінки, а з іншого - з учаслившимися випадками резистентності до традиційно застосовуваних у клініці лікарських препаратів. Тому велику увагу залучають нові антибактеріальні препарати, до яких мікроорганізми ще не встигли виробити резистентність.[1,2]

Враховуючи унікальний життєвий цикл хламідій, малосимптомний перебіг, важкі ускладнення (у вигляді хронічних запальних процесів органів малого таза, які ведуть до спадного процесу і формуванню безплідності), своєчасність діагностики й адекватної етіотропної терапії уrogenітального хламідіозу й мікоплазмозу посідають не останнє місце серед першочергових завдань практичної охорони здоров'я.[3,4]

Поразки органів сечостатевої системи мікоплазмової етіології за останній час значно почастишали й становлять приблизно 40% усіх запальних захворювань сечостатевих органів. Вони мають завзятий перебіг, часто рецидивують, сприяють появі ускладнень. Значення мікоплазм при змішаних венеричних захворюваннях ніким не оскаржується. У виділеннях з