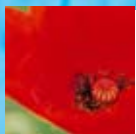


№ 2 (11)
ИЮНЬ
2011

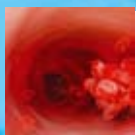
ВЕСТНИК

«ЛАБОРАТОРИИ ДНК-ДИАГНОСТИКИ»

ТЕМЫ НОМЕРА:



**ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАРКОТИКОВ
В БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ**



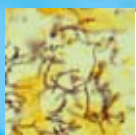
**ЧТО ЖДУТ КЛИНИЦИСТЫ ОТ
ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА?**



**ВЗЯТИЕ КРОВИ В ПРОБИРКИ
С АНТИКОАГУЛЯНТАМИ**



**ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА E7 ВИРУСОВ
ПАПИЛОМЫ 16/18 ТИПОВ**



**ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА:
СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

Диагностика сифилиса: краткий справочник

Мы уже не раз обращались к теме диагностики сифилиса, но ввиду актуальности проблемы решили опубликовать дополнительные справочные сведения по этой теме. **Данный материал публикуется с любезного разрешения врача-дерматовенеролога Сергея Анатольевича Агапова, создателя сайта venuro.info, посвящённого проблемам венерологии.**

Диагноз сифилиса ставится на совокупности данных анамнеза, клинической картины и лабораторных данных, включающих обнаружение возбудителя и результаты серологического обследования. Подтверждение диагноза лабораторными данными обязательно.

В случае полного отсутствия возможности использования методов лабораторной диагностики сифилиса, ВОЗ (1999 г.) и МЗ РФ (приказ № 327 от 25.07.2003 г.) допускают использование так называемого синдромного (эпидемиологического) лечения сифилиса на основе клинико-анамнестических данных.

Методы диагностики, подтверждающие наличие сифилиса

Наименование	Метод проведения	Подтверждающие признаки
Анамнез	Опрос больного	Подтвержденный диагноз сифилиса у полового партнера. Случайная половая связь без барьерного предохранения в период, соответствующий инкубационному периоду. Наличие в прошлом высыпаний в области половых органов, увеличения лимфоузлов
Клинический осмотр	Осмотр половых органов, кожных покровов, слизистой рта, ануса. Пальпация высыпных элементов при их наличии. Пальпация периферических лимфоузлов	Наличие характерных для различных периодов сифилиса поражений кожи и слизистых. Увеличение лимфоузлов
Обнаружение <i>T. pallidum</i> в материале из очагов поражения, лимфатических узлов, амниотической жидкости, ликворе	Темнопольная микроскопия	Обнаружение типичных форм трепонемы
	Прямая реакция иммунофлюоресценции (РИФ-Тр)	Наличие флюоресцирующих трепонем
	Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	Обнаружение специфической ДНК <i>T. pallidum</i>
Нетрепонемные серологические тесты: обнаружение в сыворотке крови антител против фосфолипидов тканей, разрушенных сифилитической инфекцией, и липидов мембраны <i>T. pallidum</i>	Макроскопический тест быстрых плазменных реагинов (RPR)	Положительный (позитивный) результат
	Микроскопический тест VDRL, количественный тест VDRL	
	Реакция связывания комплемента (реакция Вассермана)	
Трепонемные серологические тесты: обнаружение в сыворотки крови антител против антигенов бледной трепонемы	Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)	Положительный (позитивный) результат
	Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА)	
	Иммуноферментный анализ (ИФА/ELISA)	
	Иммуноблоттинг	
	Реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ)	

Продолжение на стр. 20

ВЕСТНИК

«ЛАБОРАТОРИИ ДНК-ДИАГНОСТИКИ»

ИЮНЬ, 2011, № 2 (11)

Содержание

Диагностика сифилиса,
краткий справочник..... обложка 2

Диагностика наркоманий.

Определение наркотиков
в биологических материалах:
возможности и перспективы..... 2

Система гемостаза. Что
ждут клиницисты от тестов
на гемостаз? Стратегия на-
значения и интерпретации
тестов, характеризующих
систему гемостаза 9

Берем пробы правильно:
взятие крови в пробирки
с антикоагулянтами..... 13

**Новое в лабораторной
диагностике.** Определение
белка E7 вирусов папилло-
мы 16/18 типов: новая сту-
пень в профилактике разви-
тия рака шейки матки 16

Почему не нужно прово-
дить тестирование на ВПЧ
у мужчин?..... 19



Е. В. Селиванов,
главный редактор,
к. м. н., заместитель
директора ООО Меди-
цинский центр «Лабо-
ратория ДНК-Диагнос-
тики» по лечебной
работе

Уважаемые коллеги!

Вот и пришла настоящая весна, не за горами лето. Мы прощаемся с вами до осени, и встретимся уже в сентябре. Желаем всем отличного отдыха, минимум стрессов. Наслаждайтесь недолгим сибирским летом.

В июне все мы будем отмечать День медицинского работника. Поскольку журнал выходит раньше, коллективы редакции и Сети медицинских центров заранее поздравляют Вас с профессиональным праздником. Я посвятил всем нам — медикам — небольшое стихотворение:

Хоть с каждым годом всё труднее
Быть медиком в своей стране,
Но тем вы все для нас ценнее,
Те, кто остался «на коне».

Пусть часть из нас подались в бизнес —
Жить каждый хочет веселей,
Но между тем, хочу отметить, —
профессии верны своей.

С Днем медика вас поздравляя,
Желаем счастья и тепла.
Сто раз здоровья вам желая,
Мы с вами рядом навсегда!

Сеть медицинских центров



Вестник «Лаборатории ДНК-Диагностики» — корпоративное издание ООО Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики».

Наш адрес: г. Барнаул, ул. А. Петрова, 247. **Тел./факс:** 3852 289060. **E-mail:** otvet@dnklab.com. **Web:** www.dnklab.ru.
Главный редактор: Е. В. Селиванов. **Технический редактор:** Е. Н. Звягинцев. **Печать и допечатная подготовка:** типография Printexpress, г. Барнаул, ул. Кирова, 47, тел./факс: 3852 363626.
Тираж: 700 экз.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАРКОТИКОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ: Возможности и перспективы

Селиванов Е. В.

Наркотиками называют любые химически активные вещества, оказывающие специфическое воздействие на центральную нервную систему человека. На самом деле, определений у слова «наркотики» множество, в зависимости от того, рассматривают их с медицинской, юридической или психологической точки зрения. Наркотики обычно делят на три основные группы в соответствии с эффектами их воздействия на центральную нервную систему:

- депрессанты;
- стимуляторы;
- галлюциногены.

Ряд наркотиков дает несколько эффектов — например, экстази оказывает и стимулирующий, и галлюциногенный эффект. Однако один из эффектов всегда будет основным (у экстази это стимулирующий эффект, поэтому это вещество относят к группе стимуляторов).

Действие наркотиков основано на способности этих веществ влиять на клетки головного мозга на химическом уровне. Именно по этой причине употребление наркотических веществ может привести к серьезным психическим осложнениям, одно из которых — наркотическая зависимость.

Рассмотрим детально наиболее распространенные группы наркотиков.

Опийная группа (героин и другие опиаты)

К опийной группе наркотиков относят все виды наркотических алкалоидов

опиума. Сам опиум или опий — сильнодействующий наркотик, получаемый из высушенного на солнце млечного сока, добываемого из незрелых коробочек опийного мака. Содержит около 20 алкалоидов. В медицине опий благодаря высокому содержанию морфиновых алкалоидов использовался как сильное болеутоляющее средство. Однако он быстро вызывал наркотическую зависимость, и теперь применяется лишь как сырье для получения медицинских препаратов (морфина, кодеина, папаверина и других), а также для синтеза наркотика героина. Часто **опиатами** называют алкалоиды мака и его производные, а **опиоидами** — их синтетические и полусинтетические производные и аналоги.

Употребляются чаще всего инъекционным путем или путем вдыхания. Признаки проявления опьянения противоречивы, они очень зависят от стажа и принятой дозы. Человек, находящийся под воздействием опиатов, замкнут, погружен в себя, избегает контактов и хочет тишины или, наоборот, излишне общителен, до навязывания себя другим.

Опийная зависимость формируется очень быстро (при ежедневном употреблении — за несколько недель), при прекращении приема возникает синдром отмены: расстройство желудка, тошнота, боли в желудке, пот, холодная и влажная кожа, озноб, насморк, невозможность заснуть, нервозность, депрессия, беспокойство, значительная потеря энергии, мышечные и суставные боли. Синдром

отмены начинается примерно через 8-12 часов после последнего приема и достигает своего пика на второй или третий день. Обычно он проходит через 3-14 дней, но этот срок индивидуален.

Марихуана (каннабиноиды)

Марихуана — психотропное вещество, полученное из разновидности конопли, которая содержит наибольшее количество психоактивных веществ — каннабиноидов. В природе существует приблизительно 60 каннабиноидов, самый действенный из которых — дельта-9-тетрагидроканнабиол. Существуют три основных вида конопли, имеющих разное содержание наркотических каннабиноидов. Согласно исследованиям британского медицинского журнала *Lancet*, марихуана занимает 11-е место по вредности в списке вредных наркотических веществ (алкоголь и табак занимают 5-е и 9-е место соответственно).

У марихуаны много сленговых и региональных названий. В среде курильщиков и иногда вне ее марихуаной называют и само растение коноплю.

Препараты конопли, употребляемые в Индии, зачастую являются своеобразными эталонами силы воздействия на организм. Известны три разновидности: банг (бханг), ганджа и шарас (чарас). Наименее действенный и самый дешевый препарат, банг, получают из высушенных и измельченных листьев, семян и стеблей. Ганджа, получаемая из соцветий культивируемых женских растений, в 2-3 раза сильнее банга. Шарас — это чистая смола, известная на Ближнем Востоке под названием гашиш, который употребляется посредством курения.

По внешним признакам узнать наркомана не составляет труда. При небольших дозах наблюдается излишняя подвижность и активность, он может производить впечатление энергичного человека, быстро принимающего решения, но, увы, он практически не отдает себе в них отчета. В разговоре тараторит,

словно боится не успеть что-то сказать, речь сбивается, простые мысли поясняются многочисленными фразами и лирическими отступлениями.

В группе людей, принявших наркотик, присутствует цепная реакция: если кому-то одному весело — смеются все, причем, над чем они смеются, могут не знать сами. Характерна резкая смена настроения на прямо противоположное: добродушие и покладистость сменяются агрессией, вспыльчивостью. Опьянение проявляется повышенным, неумным аппетитом, словно человек готов поглощать все съестное, что попадает под руку, и в больших количествах. Глаза «стеклянные», с расширенными зрачками, иногда кажется, что наркоман смотрит как бы сквозь того, с кем общается.

При употреблении больших доз марихуаны лицо человека становится бледным, зрачки сужаются. Он уходит в себя, стараясь спрятаться от внешнего мира, чувствуя какое-то бессилие. Человек как бы заторможенный, не может сосредоточиться, и получить от него вразумительный ответ, а часто и вообще либо-либо ответ на поставленный вопрос практически невозможно. Состояние опьянения сменяется абстиненцией, сопровождающейся депрессией, сонливостью со вспышками раздражительности. Может возникнуть бессонница, головокружение, тревога, озноб. Не исключены психозы с галлюцинациями.

Психостимуляторы (кокаин, экстази т.п.)

Психостимуляторами являются кокаин и большая группа амфетаминов.

Кокаин

Это белый мелкокристаллический порошок (чем-то напоминающий чистый снег), получаемый с помощью экстракции из листьев растения *Erythroxylum coca* (кустарника коки).

Из листьев коки, которые обрабатываются керосином и перетираются, полу-

чается паста. При добавлении в эту пасту соляной кислоты, получается соль — гидрoхлорид кокаина (солянокислый кокаин). Эта соль и продается на улицах.

Соль кокаина легко растворяется в воде, поэтому наркоманы не только нюхают ее, но, при нарастании зависимости, вводят шприцем в вены или просто едят.

Т. к. при вдыхании кокаина через слизистую оболочку носа наступает достаточно выраженное специфическое опьянение, именно вдыхание кокаина носом остается самым популярным способом приема кокаина. Существует форма кокаина для курения, т.н. крэк.

Кокаин является вторым, после опиатов, «проблемным наркотиком» (наркотическим веществом, злоупотребление которым представляет собой значительную социально-экономическую проблему). В связи с географической близостью районов культивирования куста коки и производства химически чистого кокаина, употребление этого вещества распространено преимущественно в Северной и Южной Америке, на долю которых приходится 70 % мирового потребления кокаина.

Амфетамины

Амфетамины — большая группа различных препаратов. Сюда входят такие известные наркотики, как экстази (метилендиоксиметамфетамин, группа фенилэтиламинов), амфетамин (1-фенил-2-аминопропана сульфат), метамфетамин — производное амфетамина. Гидрохлорид метамфетамина выпускался в СССР под торговым названием первитин до 1957 г. Именно так чаще всего его и называют в России.

Человек, находящийся под воздействием психостимуляторов, кажется очень оживленным, двигается резко и порывисто, все поступки совершаются им быстро. Его словно постоянно несет куда-то неведомая сила, ему трудно усидеть на месте, он постоянно в движении, деятелен, причем эта деятельность может не иметь ни-

какой практической цели, например, наркоман может взяться разбирать новый телевизор, потом собирать его обратно, потом снова разбирать. Он не может придерживаться какого-либо постоянства в делах и мыслях, поэтому может браться за многое и все бросает.

Ему трудно быть пассивным, пусть даже слушателем, трудно находиться наедине с собой, не отвлекая себя чем-то. Он может внезапно задумать какую-нибудь поездку и торопиться в дорогу, но скоро бросит и это занятие и все равно никуда не уедет.

При этом, находясь в стадии опьянения, он может сутками не спать. Зрачки его расширены, кожный покров сухой, пульс учащенный.

Галлюциногены

Галлюциногены (LSD, псилобицин, мескалин) — самые «загадочные» и трудно распознаваемые вещества. Эти наркотики помещают под язык до рассасывания. Родители могут находить мелкие квадратiki вощеной бумаги.

Подобные вещества считаются наркотиками, изменяющими сознание в мистическую сторону, а «трудными» потому, что признаки их употребления очень похожи на аспекты поведения людей, которых окружающие считают людьми со странностями. Они видят в обиходных предметах что-то, мимо чего проходят все остальные. Обычные цвета для них приобретают насыщенность, глубину и «серебристость». Их может тронуть изгиб травинки у дороги, в которой они видят мистическую скульптуру, подростки могут застыть и часами любоваться растением. Они могут воспринимать в опьянении неодушевленные предметы как живые существа и пытаться разговаривать с ними. Движения замедленные, плавные. Человек в опьянении замкнут, может бормотать что-то невнятное, может разговаривать сам с собой, размахивая при этом руками. На внешние раздражители, например на окрики, реагирует

замедленно, неохотно, к нему очень трудно «достучаться», чтобы получить ответ на вопрос.

Зависимых людей очень сильно занимают мистические проблемы мироздания, отчего они бросаются то в философию, то в религию, и представляют собой идеальный материал для различных сект.

Существуют и другие группы препаратов, по действию схожих с наркотическими — это и успокаивающие препараты, и холинолитики, и различные растворители, но в силу особенностей их диагностики мы не будем на них останавливаться.

Лабораторные тесты на наркотики

В течении определенного периода после употребления наркотических веществ в организме можно обнаружить как сами эти вещества, так и продукты их метаболизма в биологических жидкостях человека (в слюне, моче, крови) и в тканях. Существующие лабораторные тесты на наркотики определяют наличие вещества в одной из этих биологических сред.

Тесты определяют содержание в организме не только наркотиков, но и продуктов их метаболизма — побочные продукты, которые образуются в организме, после того как вещество переработано печенью, почками и другими органами.

Существует три типа тестов:

- анализ мочи;
- анализ волос;
- анализ крови.

Ключевая разница между этими видами биологических материалов состоит в стоимости анализа, периоде обнаружения, скорости проведения анализа, легкости взятия образцов.

Стоимость тестов

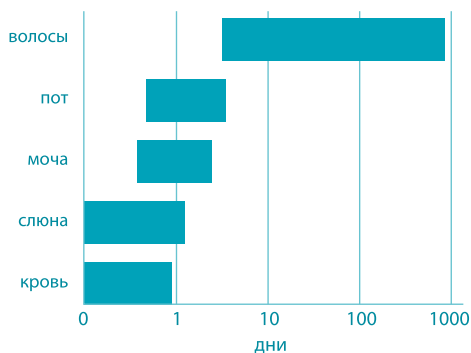
Самый дорогой и самый точный тест — это анализ волос, а самый дешевый — это тест на наличие наркотиков в моче. Именно анализ мочи на наркотики в основном и используется в нашей стране сегодня.

Период обнаружения

Продолжительность периода, в течение которого наркотические вещества могут быть обнаружены в организме, зависит от исследуемого материала. Анализ слюны или крови должен быть проведен в течении 24 часов после употребления препаратов. В случае, когда образцы крови или слюны для анализа были взяты по прошествии большего срока, наркотические вещества, а также продукты их метаболизма, будет практически невозможно обнаружить. Для таких случаев более пригодным является анализ мочи, который позволяет обнаружить однократное употребление наркотических препаратов в течение 1-4 дней после их приема.

При необходимости определить, принимал ли человек наркотические вещества ранее чем в течение последних 4 дней, анализы проводят по волосам. Волосы обладают уникальной способностью накапливать разнообразные химические вещества, в том числе и наркотические, даже при минимальном, однократном приеме. Эти вещества остаются в волосах многие месяцы и даже годы, что позволяет использовать этот материал для изучения картины применения наркотиков за долгий период времени.

Сравнительная характеристика методов анализов в зависимости от вида анализируемого вещества приведена на рисунке.



Быстрота проведения анализов

Для анализа наркотических веществ в моче достаточно 5-10 мин с момента

Таблица 1.

Сроки выявления некоторых наркотических веществ в моче.

Алкоголь	6-24 часа
Барбитураты	до 21 дня
Бензодиазепины	до 42 дней
Марихуана (однократное использование)	2-3 дня
Марихуана (регулярное использование)	до 12 недель
Кокаин	4-5 дней
Метамфетамин	3-5 дней
РСР	3-7 дней
Амфетамины	около 4 дней
ЛСД	около 3 дней
МДМА	около 5 дней
Опиум	около 2 дней
Героин (однократное использование)	около 4 дней
Героин (регулярное использование)	около 7 дней
Морфин	около 4 дней
Фенциклидин (однократное использование)	около 7 дней
Фенциклидин (регулярное использование)	около 30 дней
Метадон	около 7 дней
Кодеин (возможна положительная реакция на опиаты)	около 4 дней
2-СВ (возможна положительная реакция на амфетамины)	около 3 дней
Риталин, сиднокарб (возможна положительная реакция на амфетамины)	около 3 дней
ДХМ (возможна положительная реакция на опиаты или РСР)	около 4 дней

взятия образцов. Кровь, слюну и волосы направляют в лабораторию, где используются разнообразные методы анализа, в среднем занимающие от 48 часов до 7-10 дней.

Легкость взятия образцов

Взятие крови является довольно сложной процедурой, требующей наличия подготовленного персонала, специального оборудования и емкостей для хранения. Для транспортировки образцов крови необходимы специальные условия упаковки и хранения. Взятие слюны, мочи или образца волос являются более простыми процедурами и не требуют специально подготовленного персонала.

Таким образом, по совокупности всех требований самым удобным и недорогим методом, дающим полное пред-

ставление о факте употреблении наркотиков за последние 2-4 дня, является исследование мочи на наркотики.

Список выявляемых психотропных веществ в моче довольно широк:

- опиаты и их метаболиты (героин),
- метаболиты кокаина,
- каннабиноиды (марихуана),
- барбитураты,
- бензодиазепины и их метаболиты,
- амфетамин/метамфетамин,
- метадон,
- фенциклидин.

Сроки, в течение которых наркотик и продукты метаболизма могут быть определены в моче, индивидуальны в каждом конкретном случае, так как зависят от множества факторов, наиболее важными из которых являются тип теста и определяемый уровень содержания наркотика.

Например, если человек употребляет марихуану редко, эпизодически, то уже через неделю после последнего приема он будет «чист». По идее, тот, кто употребляет марихуану регулярно, должен иметь более длительный период выведения ТГК (активного вещества марихуаны), но в ряде случаев это будет как раз наоборот, так как постоянное потребление и высокая толерантность будут способствовать быстрому расщеплению наркотика. У худых людей

не только быстрее протекают процессы метаболизма, но и меньше «емкость» для хранения наркотиков, поэтому, как правило, наркотики у них выводятся гораздо быстрее, чем у полных. Усредненные данные приведены в таблице 1.

Помните, что быстрое обнаружение в моче широкого спектра наркотических препаратов часто помогают своевременно заметить наркотическую зависимость и бороться с ней.

Кроме выявления наркотиков в крови и моче, также разработаны тесты для выявления содержания наркотических веществ в волосах.

Большинство наркотических веществ откладываются внутри волосяного ствола в малых, но в то же время детектируемых количествах, что позволяет точное определение даже после однократного приёма вещества в небольшой дозе, которая произошла за несколько месяцев до анализа. Один анализ волос на наркотические вещества даёт информацию, эквивалентную 6 анализам по моче.

Анализ наркотических веществ по волосам является самым надёжным и распространённым методом, которые используют большинство клиник лечения наркотической зависимости, компаний и организаций в Западной Европе и США для контроля над пациентами и сотрудниками

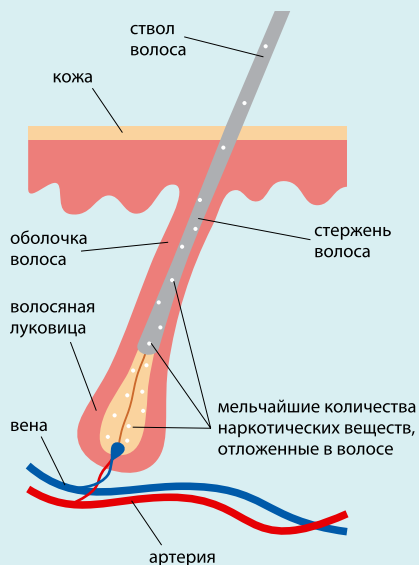


Рис. 1. Строение человеческого волоса.

Преимущества анализа волос на наркотические вещества

- Возможность определения факта приема наркотических веществ хотя бы раз в течении последних 1-12 месяцев.
- Возможность различить хроническое и одноразовое употребление.
- В 5-10 раз более чувствительный, чем другие анализы (например, анализ мочи на наркотические вещества).
- Быстрый, удобный и неинвазивный способ взятия образцов.

Образцы волос могут быть взяты многие месяцы спустя после приёма, а их анализ позволит с высокой точностью определить, в каком месяце, какое вещество и в какой дозе принималось — т. е. восстановить историю приема.

Аккумуляция наркотических средств в волосах

После попадания в организм, наркотическое вещество поглощается и поступает в кровеносную систему. Каждый волосок имеет свою собственную систему циркуляции крови, и вещества, которые находятся в крови, включая наркотические вещества, встраиваются в его структуру (рис. 1). Попав один раз в волос, вещества оттуда уже не могут попасть обратно в кровеносную систему, и откладываются в нём навсегда.

Определение срока приёма наркотических веществ по росту волос

Волос растёт в среднем со скоростью 1-1,2 см в месяц и служит своеобразной «магнитофонной лентой», на которой «записаны» все вещества, принимавшиеся человеком. Если взять волос длиной 3 см, и разрезать его на 3 части по 1 см, то та часть, которая находится ближе всего к корню, несёт информацию о всех наркотических веществах, которые человек принимал за последний месяц; второй сегмент — о веществах, которые попали в организм за предшествующий месяц, и третий — о веществах, попавших в организм 3 месяца назад. Таким образом, можно составить картину приёма наркотических веществ за довольно долгий период времени. В то же время, проанализировав все три сегмента одновременно, можно установить принимал ли человек наркотические вещества когда-либо за последние

3 месяца. Определение срока, в течение которого принимались наркотические вещества, зависит от длины волос — чем длиннее волос, тем больше информации он содержит.

Считается, что метод определения наркотиков в волосах (pilus-test) точнее прочих методов в 5-10 раз.

Кроме того, волосы — более удобный материал для исследования, чем кровь, моча или слюна. В волосах можно выявить содержание следующих веществ:

- опиаты и их синтетические аналоги (героин, морфин, кодеин, метадон, трамадол);
- амфетамин и производные амфетамина (метамфетамин, экстази);
- фенциклидин;
- кокаин.

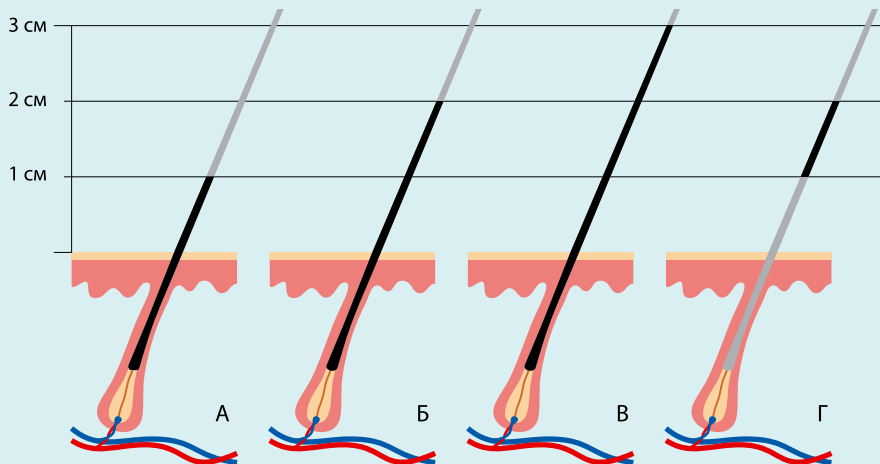


Рис. 2. Накопление наркотических веществ в волосах. А — аккумуляция наркотических веществ за 1 месяц; Б — аккумуляция наркотических веществ за 2 месяца; В — аккумуляция наркотических веществ за 3 месяца; Г — аккумуляция наркотических веществ в волосе человека, который употреблял препараты хотя бы один раз в течение второго месяца, но не употреблял в течение первого и третьего месяцев

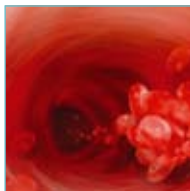
Для анализа могут быть использованы образцы волос (50-100 волосков) с головы или других частей тела (например, подмышки), однако волосы с головы дают наиболее точные результаты, т.к. волосы в других местах растут с другой скоростью и не дают адекватную оценку периода употребления наркотических веществ, хотя сам факт употребления будет обнаружен.

Взятие образцов волос для анализа

Для анализа необходимо 50-100 волосинок (пучок толщиной 2-3 мм). Образцы волос

следует отрезать у самого основания. Отрезанный локон затем следует завернуть в кусочек фольги, либо в бумагу и обязательно поместить тот конец, который был наиболее близок к корню. После этого образцы надо поместить в конверт, на котором написать имя исследуемого, год рождения и дату взятия.

Следует также заполнить сопроводительную форму, где указать информацию об образце, наркотические вещества, которые необходимо проанализировать, а также период, за который нужен результат (1, 2, или 3 последних месяца, или дольше).



ЧТО ЖДУТ КЛИНИЦИСТЫ ОТ ТЕСТОВ НА ГЕМОСТААЗ? СТРАТЕГИЯ НАЗНАЧЕНИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИИ ТЕСТОВ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ СИСТЕМУ ГЕМОСТААЗА

Селиванов Е. В.

При написании этой статьи мы решили отказать от классических подходов к теме гемостаза, которыми изобилуют различные журналы. Мы попытались ответить на вопрос «Что ждет клиницист от тестов на гемостаз?», а не описывать методики, широко используемые лабораториями. Такой подход нам показался важным, поскольку сегодня огромный перечень тестов на гемостаз назначается (не путать с «выполняется») **бездумно**, просто в силу исторически сложившихся традиций, приказов или привычек. Так ли нужны все те тесты, которые клини-

цист по поводу и без назначает своим пациентам?

Безусловным приоритетом в ведении пациента является клиническая картина заболевания. В первую очередь врач должен ответить на вопрос: есть ли клинические признаки нарушения системы гемостаза у данного пациента?

В схеме формирования стратегии назначения тестов (рис. 1) мы отразили ответ на это вопрос. Итак, возможны два принципиально разных пути: у пациента или есть уже нарушения системы гемостаза, или врачу необходимо получить

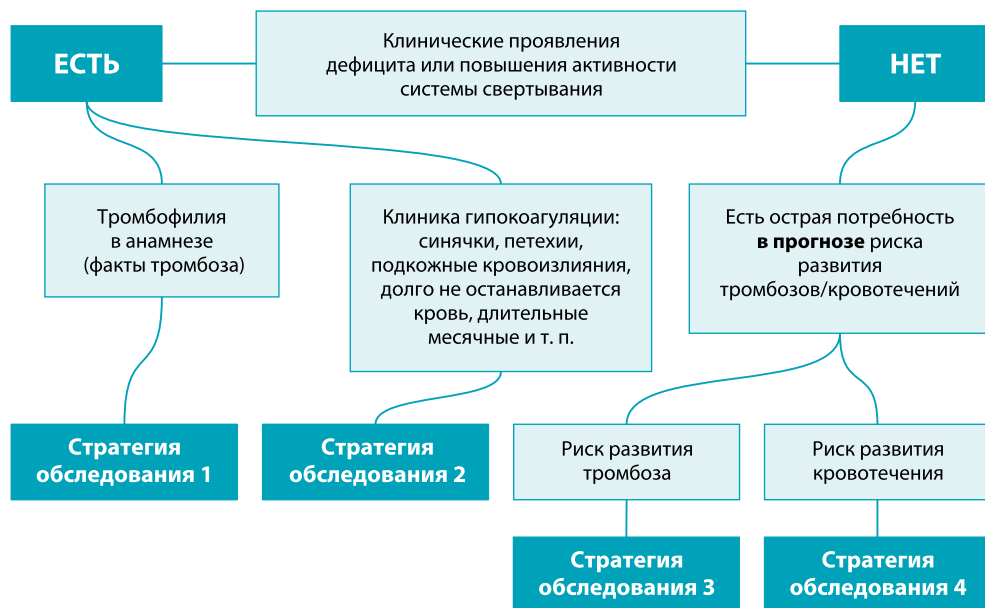


Рис. 1. Стратегия врача-клинициста при назначении и интерпретации тестов, характеризующих систему гемостаза.

прогноз рисков возникновения таких нарушений в ближайшее время.

Исторически сложилось так, что подавляющая часть лабораторных тестов, предлагаемых лабораторией сегодня рассчитана **только** на ситуации, когда у пациента уже есть клинические проявления нарушений в системе гемостаза. Принципиально их два вида (мы сейчас не рассматриваем острые нарушения типа ДВС-синдрома): тромбофилии и повышенная кровоточивость/гипокоагуляция. Как видно из рис. 1, при этом формируется **стратегия 1** — лабораторный поиск причин тромбофилии, и **стратегия 2** — лабораторный поиск причин гипокоагуляции.

Намного сложнее обстоят дела в ситуации, когда клинических проявлений нарушений гемостаза нет, и врач-клиницист ждет от лаборатории оценки **рисков** возникновения тромбозов или кровотечений. Наиболее востребовано это при оперативных вмешательствах/манипуляциях и при беременности. В таком случае мы имеем дело со **стратегией 3** — лабораторная оценка риска развития тромбоза, и **стратегией 4** — лабораторная оценка риска развития кровотечения.

Для анализа значимости разных лабораторных тестов мы свели наиболее распространенные тесты в таблицу и сравнили их значимость при той или иной стратегии диагностики.

Как видно из таблицы, не существует лабораторных тестов, одинаково полезных при разных стратегиях диагностики. Наиболее сходны схемы диагностики при повышенной кровоточивости и оценки ее риска. И совершенно другими выглядят схемы диагностики при тромбофилиях.

Собственно, мы не сделали тут никаких открытий. Уже в 2005 году в руководстве В. В. Долгова (*Долгов В. В., Свириной П. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. — Тверь: Триада, 2005. — 227 с.*) было отмечено;

«Наиболее полно этапность разработана для диагностики геморрагических

нарушений. Скрининговые тесты:

— Время кровотечения.

— Количество тромбоцитов.

— АЧТВ.

— Протромбиновое время (по Квику).

— Тромбиновое время и/или фибриноген.

Для пациентов с тромботическими заболеваниями адекватного скрининга для диагностики нарушений системы гемостаза не разработано.»

Таким образом, мы видим, что невозможно создать комплекс тестов под названием «исследования гемостаза» из привычных тестов, позволяющий ответить на все запросы клинициста. Подобные комплексы должны быть четко ориентированы под четыре стратегии лабораторного обследования в зависимости от поставленных вопроса или задачи. Если врача интересует причина тромбозов — нужен один подход (понемногу он формируется и уже есть определенных рекомендаций), если причина или риск повышенной кровоточивости — это совсем другой подход и отдельная группа тестов, и почти невыполнимая задача — оценка риска тромботических осложнений.

Сложившиеся в подавляющем большинстве лабораторий «комплексы» позволяют довольно неплохо скринировать нарушения гемостаза с повышенной кровоточивостью, но дают очень мало информации для оценки причин и риска тромбозов (только выявляют возможную недостаточность некоторых естественных антикоагулянтов). Необходим отдельный подход к формированию профилей для оценки риска тромботических осложнений. Поскольку тесты, необходимые для такой оценки, новые и высокотехнологичные, не приходится ожидать низкой цены такого исследования. Отдельную оценку значимости и перечня таких тестов мы дадим в статье, специально посвященной тромбофилиям.

Отдельного разговора заслуживает и такая важная тема, как оценка функци-

Тесты	Стратегия 1 Диагностика причин тром- бофилии (состояний с диа- гностированными случая- ми тромбозов)	Стратегия 2 Диагностика причин повы- шенной кровотоковости с клиническими проявления- ями	Стратегия 3 Оценка риска развития тромбозов	Стратегия 4 Оценка риска развития кровотечения
Тесты 2 фазы плазменного гемостаза				
Протромбиновое время (ПТВ, ПТВ1 с МНО, МНО)	Не информативно	Важно	Не информативно	Не информативно
Тесты 1 фазы плазменного гемостаза				
АПТВ	Мало информативно	Важно	Мало информативно	Важно
Определение активности от- дельных факторов свертыва- ния (VII, IX)	Не информативно, кроме фактора VIII	Важно	Не информативно, кроме фактора VIII	Не информативно
Тесты 3 фазы плазменного гемостаза				
Тромбиновое время	Мало информативно	Мало информативно	Мало информативно	Мало информативно
Фибриноген	Определение концентрации фибриногена важно для оценки ситуации в комплексе	Естественные антикоагулянты		
Протеин С / протеин S	Важно	Не информативно	Важно	Не информативно
Антитромбин III	Важно	Не информативно	Важно	Не информативно
Тесты, не входящие в традиционное понятие коагулограммы или в состав профилей гемостаза				
Волчаночный антикоагулянт	Важно	Не информативно	Важно	Не информативно
Исследование агрегации тромбоцитов	Важно	Важно	Важно	Важно
Выявление генетических дефектов факторов свертыва- ния	Важно	Важно	Важно	Важно
Гомоцистеин	Важно	Не информативно	Важно	Не информативно
Определение продуктов деградации фибриногена — ДФМК и Д-димер	Важно	Не информативно	Важно	Не информативно
Плазминоген	Важно	Не информативно	Важно	Не информативно

онального состояния тромбоцитарного звена гемостаза. Зачастую именно нарушение этого звена дает субклиническую картину гипокоагуляции или риска тромбоза. Поражает, как мало врачи уделяют внимание этой проблеме. Надо отметить,

что это совсем другая группа тестов, требующая других подходов и другого оснащения лаборатории. Надеюсь, что мы найдем возможность подробно обсудить эту проблему.

От автора

К написанию этой статьи автора подтолкнула реакция клиницистов на описание так называемых тестов «развернутого гемостаза». Желание врачей получить подробную информацию о состоянии системы гемостаза, основанную на ряде простых тестов, недостижимо, но почему-то об этом мало кто задумывается. Поэтому хотелось бы еще раз акцентировать внимание читателей на том, что тесты «развернутого гемостаза» позволяют немного:

- оценить имеющуюся или возможную гипокоагуляцию (кровоточивость), примерно определить ее причину — уровень поражения свертывающего каскада;
- с очень невысокой достоверностью оценить риск кровоточивости при проведении манипуляций (невозможно сделать без детального изучения тромбоцитарного звена);
- оценить наличие или отсутствие дефицита естественных антикоагулянтов;
- сориентировать врача на необходимость всестороннего тестирования тромбоцитарного звена гемостаза при нарушенных скрининговых тестах на функциональную активность тромбоцитов. Никаких реальных выводов о функции тромбоцитов на основании этих скрининговых тестов сделать нельзя.
- сориентировать врача на необходимость проведения дополнительных дорогостоящих тестов и обследований при повышении теста на РФМК. Ничего диагностировать с помощью этого теста нельзя, можно лишь обратить внимание на возможную проблему.
- обратить внимание врача на возможное повышение риска развития тромбозов при укорочении некоторых тестов. Никаких диагностических или прогностических выводов на основании только этих тестов делать нельзя — в 95% случаев эти лабораторные изменения к риску тромбозов не имеют никакого отношения.

В заголовке статьи использовано иллюстративное фото с сайта kakmed.com



БЕРЁМ ПРОБЫ ПРАВИЛЬНО: ВЗЯТИЕ КРОВИ В ПРОБИРКИ С АНТИКОАГУЛЯНТАМИ

Селиванов Е. В., Шикова Т. Е., Звягинцев Е. Н.

Первая часть статьи, посвящённая взятию крови для исследования на гематологических анализаторах, была опубликована в № 6-7 нашего журнала.

Часть 2. Взятие крови для исследований гемостаза (коагулологические исследования)

С каждым годом исследования гемостаза приобретают все большую актуальность — увеличивается количество тестов, улучшается их специфичность, клиническая значимость. Соответственно возрастает и необходимость в качественно взятом материале для исследований. Исследование гемостаза требует самого точного соблюдения всех правил взятия, ведь перед нами стоит задача взять пробу крови таким образом, чтобы системы свертывания не активировались вплоть до момента исследования. Тут непригодны такие грубые антикоагулянты, как соли ЭДТА (практически необратимо связывающие все катионы — кальция (за счет чего и проявляется антикоагулянтная активность ЭДТА), железа, цинка и т. п.); или гепарин (входящий в противосвертывающую систему). Оптимальным антикоагулянтом для исследований гемостаза является цитрат натрия, который мягко связывает ионы кальция и сохраняет систему интактной до исследования. Но именно «мягкость» цитрата приносит на преаналитическом этапе массу проблем из-за его капризности.

В эпоху довакуумных пробирок кровь на исследование гемостаза бралась самостеком иглой с широким просветом в пробирку, покрытую силиконом, до метки, соответствующей соотношению 3,2% раствора цитрата к крови 1:9. Подготовка силиконовых пробирок, приготовление антикоагулянта в лаборатории доставляют массу неудобств. Сегодня они с успехом преодолены использованием одноразовых пробирок (как вакуумных, так и невакуумных).

При этом решаются две важные проблемы:

1. Материал пробирки должен быть максимально интактным, т.к. активация гемостаза и ложное изменение показателей происходит даже от незначительного контакта крови со стеклом. Раньше для этого пробирки силиконировали, теперь используют пробирки из полиэтилен-терфталата (ПЭТ), полиэтилена (ПЭ), полипропилена (ПП) или их композиций. Так, у пробирок последнего поколения компании Grainer внешний слой выполнен из ПЭТ, что обеспечивает сохранение вакуума, а внутренний — из ПП для соблюдения интактности.
2. Для качественного выполнения анализа ключевым фактором является точное соблюдение соотношения антикоагулянт-кровь, равное 1:9. В вакуумных пробирках это решено в условиях производства — разрежение, созданное в пробирке,

позволит взять ровно столько крови, на сколько рассчитана доза антикоагулянта. Да и из вакуумных пробирок антикоагулянт при хранении не испаряется, бактериальное обсеменение отсутствует.

При нарушении принятого соотношения раствора цитрата и крови (1:9) большее количество антикоагулянта по отношению к плазме может вызвать удлинение ПВ и АЧТВ (рис. 1), а меньшее — к образованию микростушков.

Если же вы по каким-либо причинам не используете вакуумные пробирки, всегда придерживайтесь нескольких простых, но важных правил:

- при взятии шприцем после прокола вены отбрасывайте первую порцию крови (1-2 мл);
- используйте только разовые невакуумные пробирки из полиэтилена или полипропилена с заводским нанесением антикоагулянта и герметичной крышкой. Жидкость из антикоагулянта не должна испаряться;
- не готовьте самодельные пробирки в лаборатории;
- не выдавливайте кровь из шприца в

пробирку через иглу;

- четко выдерживайте соотношение антикоагулянт-кровь, равное 1:9. На заводских пробирках обязательно должна быть метка, до которой наливается кровь.
- аккуратно, но тщательно, без резких движений, перемешайте пробу, переворачивая пробирку на 180°;
- не используйте капиллярную кровь (кровь, взятую из пальца).

Каким бы способом вы не брали кровь, ее необходимо правильно хранить и доставлять в лабораторию. Если используется сторонняя лаборатория и кровь на гемостаз необходимо транспортировать достаточно долго, следует выбирать специальные пробирки системы STAD (к цитрату добавляются теofilлин, аденозин и дипиридамо́л). Необходимо помнить, что взятие крови в пробирки с STAD недопустимо, если планируется исследование агрегации тромбоцитов. В процессе транспортировки кровь надо везти аккуратно, избегая резкого встряхивания, при температуре 22-24°C. Чтобы не вызвать разрушения тромбоцитов, не рекомендуется кровь охлаждать.

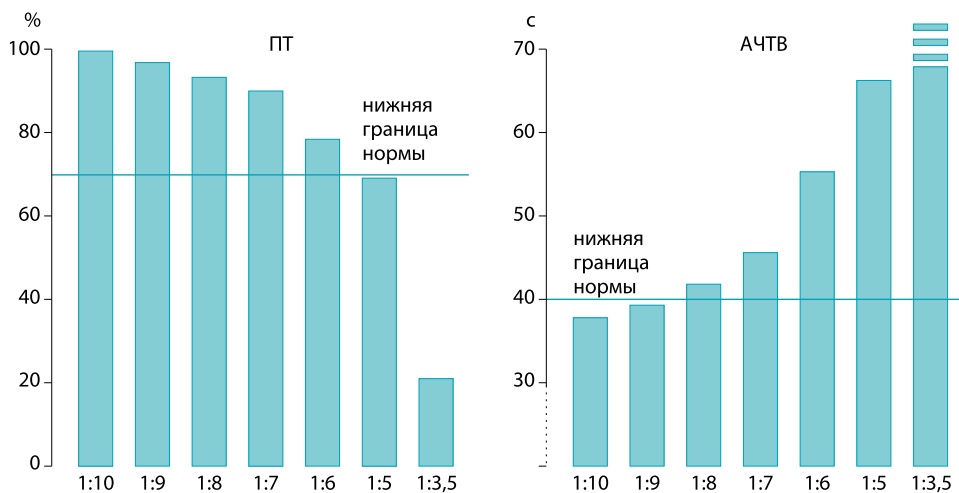


Рис. 1. Влияние разведения крови антикоагулянтом на протромбиновый тест (ПТ) и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ). Разведение крови антикоагулянтом сопровождается удлинением протромбинового времени (снижение протромбина) и АЧТВ, при разведении меньшем, чем 8:1, это приводит к регистрации ложноположительного результата (Долгов В. В., Свири́н П. В.).

Влияние различных факторов преаналитического этапа на результаты коагулологических исследований (Долгов В. В., Свиринов П. В.)

Преаналитические факторы	Влияние
Время суток	Снижение содержания факторов свертывания и повышение уровня ингибитора активатора плазминогена в ночное время
Прием пероральных контрацептивов	Повышение активности большинства факторов свертывания, агрегации тромбоцитов, снижение уровня антитромбина III
Длительный стаз (более 3 мин)	Увеличение фибринолитической активности, укорочение АЧТВ, ПВ, ТВ, повышение уровня фибриногена, антитромбина III
Стресс, физическая нагрузка	Повышение фибринолитической активности (уровня t-PA), укорочение АЧТВ, активация фактора VIII, увеличение vWF
Положение тела	В положении стоя происходит относительное увеличение содержания факторов свертывания
Температура +18... +24 °С в течение 8 часов	Снижение активности факторов VIII, V и IX (удлинение АЧТВ)
Температура +4 °С	Увеличение активности факторов VII, XI и XII

Влияние условий взятия и транспортировки на ряд показателей, характеризующих систему гемостаза, представлено в таблице 1.

Итак, сформулируем несколько основных правил преаналитического этапа для анализа крови на гемостаз:

1. Перед взятием крови пациент должен находиться в покое минимум 20 минут. Наложение жгута должно быть очень кратковременным, в идеале не более 60 с.
2. Кровь берется из локтевой вены в положении сидя, иглой с широким просветом (20-21G), в одноразовую пробирку, сделанную из ПП или ПЭ, с 3,2% цитратом натрия, или с системой STAD при необходимости транспортировки. Содержимое

пробирки тщательно, но аккуратно перемешивается переворачиванием на 180°. Встряхивание пробирки с кровью не допускается.

3. Если назначено несколько видов исследований из нескольких пробирок, кровь на гемостаз берут последней.
4. При использовании невакуумных пробирок тщательно следите за соблюдением соотношения кровь-антикоагулянт. Не допускается выливать кровь в пробирку через иглу шприца.
5. Проба с соблюдением температурного режима (без перегревов и **особенно** охлаждений), и не позднее 2 ч доставляется в лабораторию.

Обратите внимание:

1. У большинства производителей, помимо пробирок с цитратом натрия для гемостаза (соотношение 1:9, с концентрацией цитрата 3,2%, стандартного для исследований гемостаза в США), в преискуранте есть пробирки с 3,2% цитратом натрия, где соотношение антикоагулянт-кровь равно 1:4. **Пробирки с соотношением цитрата и крови 1:4 используются исключительно для измерения СОЭ, и для взятия крови на гемостаз непригодны.**
2. При выборе между растворами цитрата с концентрациями 3,2% и 3,8% лучше использовать 3,2% раствор, т.к. доказано, что такая концентрация антикоагулянта оптимальна для определения АЧТВ и ПТИ. Также при использовании 3,2% цитрата время хранения материала в первичной пробирке больше. Для исследования функции тромбоцитов концентрация цитрата значения не имеет.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА Е7 ВИРУСОВ ПАПИЛЛОМЫ 16/18 ТИПОВ: новая ступень в профилактике развития рака шейки матки

Селиванов Е. В., Звягинцев Е. Н., Такмакова В. А.

В предыдущих номерах журнала мы уже обсуждали значение вирусов папилломы (ВПЧ) и подходы к диагностике заболеваний шейки матки. Напомним основные положения этих материалов:

1. ВПЧ, особенно высокого онкогенного риска (16 и 18 типы), являются причиной возникновения неопластических процессов в шейке матки, которые у части инфицированных заканчиваются раком шейки матки.
2. Для злокачественной трансформации должны сложиться определенные условия, среди которых генетические факторы, нарушения баланса метаболитов эстрадиола (длительное нарушение баланса соотношения метаболитов эстрогенов — 2-ОНЕ1/16α-ОНЕ1 в сторону повышения синтеза агрессивного метаболита 16α-ОНЕ1 является причиной развития дисплазии шейки матки, эндометриоза), тип вируса, продукция им онкогенных белков — Е5, Е6, Е7.
3. Начинать скрининг следует с 30-летнего возраста, не ранее 9 лет с момента начала половой жизни. Нет смысла в тестировании на ВПЧ молодых девушек, т.к. 80-95% таких инфекций заканчиваются самоизлечением.
4. Для высокого качества цитологических исследований оптимально подходит метод жидкостной цитологии, когда клетки с шейки матки берутся не на стекло, а в специальную жидкость. В таких пробах одновременно с цитологическим исследованием можно и выявлять ДНК ВПЧ (в т.ч. и количественно), и определять белок Е7 ВПЧ.
5. Окраска цитологических препаратов должна проводиться по Папаниколау. В российских лабораториях обычно окрашивают другими методами, а окраска по Папаниколау — редкость.
6. Алгоритм диагностики может включать в себя одновременное проведение цитологического скрининга и выявления ВПЧ (рис 1), а может быть основан только на ВПЧ-тестировании на первом этапе скрининга (рис. 2).

Много вопросов и непониманий вызывают рекомендации западных специалистов проводить выявление ВПЧ в т. н. Digene-тесте. Дело в том, что по причине покупки компанией СЕТУС всех прав на использование полимеразной цепной реакции в коммерческих целях ПЦР-исследования долгое время были недоступны в Европе. В качестве альтернативы ПЦР-выявлению ДНК ВПЧ компания Digene (США) разработала тест, получивший название Hybrid Capture 2 High Risk HPV DNA Test (в отечественной литературе — Digene-тест). Этот тест был одобрен FDA в 2003 г., а затем, после проведения широких испытаний в разных странах мира, рекомендован для скрининга. Метод основан на ДНК-гибридизации, но, по сути, **и ПЦР, и Digene-тест выявляет одно и то**

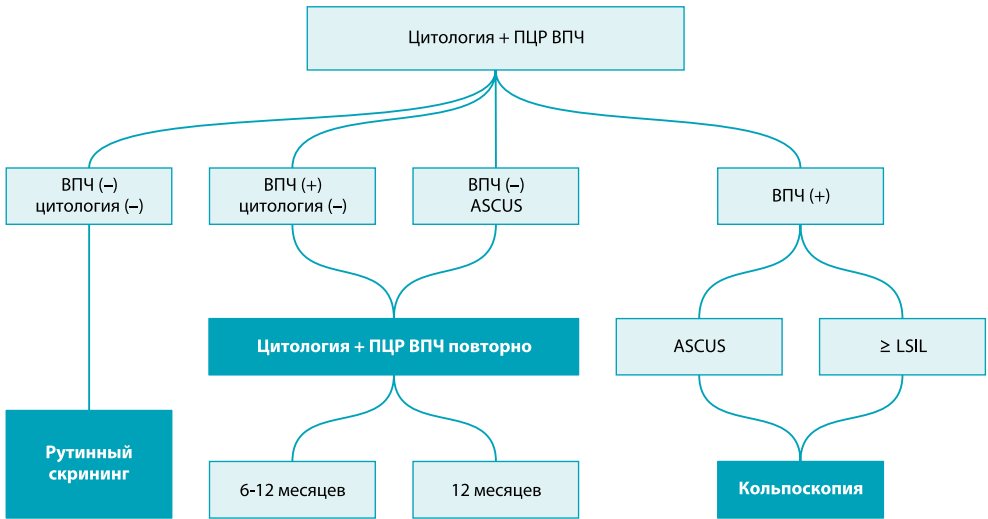


Рис. 1. Алгоритм диагностики неопластических процессов с одновременным проведением цитологического исследования и выявления ВПЧ (по О. Ю. Шипулиной).

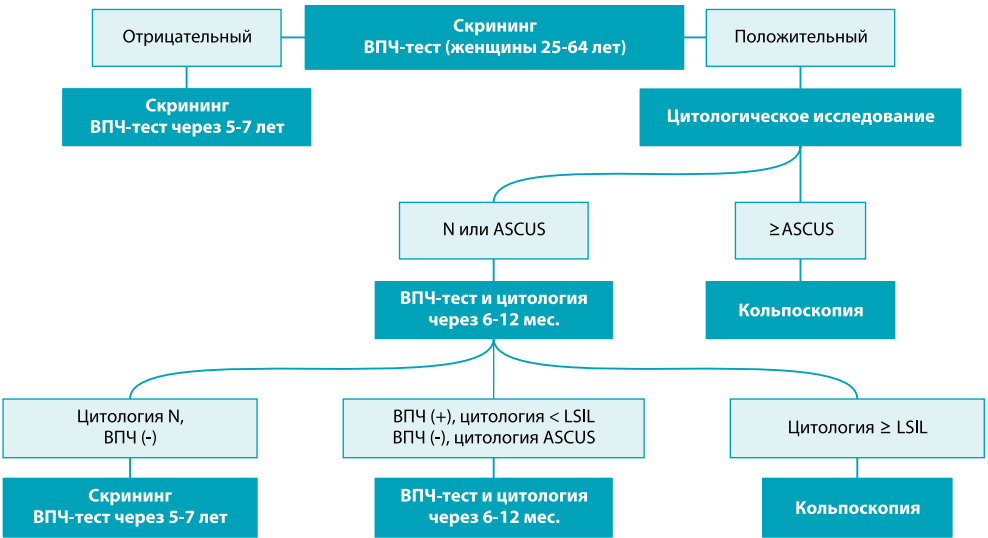


Рис. 2. Алгоритм использования ВПЧ-теста как самостоятельного исследования на первом этапе скрининга (по О. Ю. Шипулиной).

же — ДНК ВПЧ высокого риска. В России ПЦР-технологии значительно доступнее и дешевле, поэтому их преимущество в широкой клинической практике неоспоримо. При этом Digene-тест стоит очень дорого (порядка 20\$) и требует специальной подготовки исполнителя.

Вспомнив и обсудив предварительные замечания по ВПЧ, перейдем к собственно теме нашей статьи.

Геном ВПЧ и продуцируемые вирусом белки

Геном вируса папилломы человека (ВПЧ) представлен циркулярной двуспиральной ДНК с 8 тыс. пар оснований. В процессе размножения (репликации) вирус продуцирует от 8 до 10 белков, обозначаемых буквами E — E1, E2, E3 и т.д.

Геном ВПЧ устроен довольно просто. На рис. 3 приведена физическая карта

генома ВПЧ (на примере ВПЧ 11 типа), на которой видно, где и как кодируются 6 ранних белков и 2 поздних. Наиболее важными с точки зрения онкогенного потенциала ВПЧ являются вирусные белки E5, E6 и E7. Их еще называют онкобелками ВПЧ. Поздние белки Н1 и Н2 относятся к капсидным белкам, обеспечивают строительство оболочки вируса.

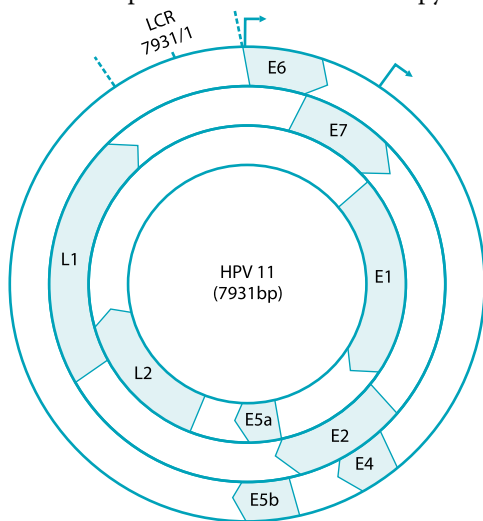


Рис. 3. Схема генома ВПЧ типа 11.

Онкобелки ВПЧ

Онкобелок E5

Онкобелок E5 относится к белкам со слабой трансформирующей активностью. При онкогенной трансформации клеток в своей активности он зависит от белка E7. Установлено, что белок E5 нарушает процессы передачи клеточных сигналов на уровне лиганд-рецептор. Поскольку функция онкобелка E5 состоит в разрыве «цепочки» лиганд-рецепторзависимой передачи клеточных сигналов, восстановление нормального пути работы рецептора представляется перспективным направлением для создания противовирусных препаратов в лечении ВПЧ-инфекции.

Присутствие E5 важно только в момент запуска пролиферации клеток на ранних стадиях процесса. При дальнейшей малигнизации E5 не определяется.

Поэтому он не может быть диагностическим критерием раковых и предраковых процессов.

Онкобелок E6

Онкобелок E6 высокоонкогенных типов ВПЧ является белком высокого риска малигнизации. Взаимодействует с антионкобелком p53 (ранее мы уже указывали, что генные полиморфизмы антионкобелка p53 являются важным фактором перехода от простой ВПЧ инфекции к предраковому состоянию) и образует с ним устойчивый комплекс. Это приводит к быстрому разрушению p53. Интересно что белки E6 низкоонкогенных типов неспособны к связыванию с p53. Помимо этого белка E6 связывается с рядом других белков клеток эпителия, обеспечивая их дальнейшее раковое перерождение.

Белки E6/E7 совместно действуют на экспрессию гена, кодирующего интерлейкин-18, что обеспечивает ускользание от иммунного ответа. Обращаем на этот факт особое внимание, т.к. постоянно приходится слышать от клиницистов о необходимости лечения иммунной недостаточности при ВПЧ-инфекции. Так вот, никакой общей иммунной недостаточности нет. Она формируется вирусом локально за счет белков E6 и E7, и обеспечивает только его выживание, не приводя к общей иммуносупрессии.

Однако на этапе CIN 2 этот белок, как и E5, уже отсутствует в клиническом материале, и его диагностическая роль так же невелика.

Онкобелок E7

Онкобелок E7 является посредником в нарушении контроля клеточного роста, обрывая цепь физиологических сигналов клетки. Экспрессия белка E7 играет ключевую роль в размножении (репликации) ВПЧ. Так как активная репликация ВПЧ происходит в дифференцирующихся кератиноцитах, ВПЧ должен задерживать конечную диффе-

ренцировку этих клеток и экспрессию генов, контролирующих клеточное деление.

Белок E7 подавляет индукцию генов, отвечающих активацией экспрессии под влиянием эндогенного интерферона (ИФН). Это свидетельствует о существовании своеобразного механизма ускользания ВПЧ от ИФН в условиях развивающейся инфекции. Поэтому лечение ВПЧ инфекции препаратами интерферона или индукции интерферона без блокировки белка E7 малоэффективно. Поэтому перед ИФН-терапией¹ целесообразно определять уровень онкобелка E7. Его высокие значения свидетельствуют о нецелесообразности применения ИФН на первом этапе лечения ВПЧ-зависимой патологии шейки матки.

Онкобелок E7 присутствует во всех клетках, инфицированных ВПЧ и начавших неопластическую трансформацию вплоть до формирования рака шейки

¹ Чаще используется рекомбинантный препарат альфа-ИФН, имеющий разные торговые названия: «Этферон» (Egis), «Велферон» (Wellcome), «Реаферон» (Россия), «Реальдирон» (Литва)

матки, поэтому его определение очень важно для оценки риска развития РШМ у конкретной пациентки.

В последние годы предпринимаются попытки создания противовирусных препаратов, направленных на подавление функций онкобелка E7, поэтому выявление этого белка в клетках эпителия шейки матки важно и для контроля за эффективностью терапии.

Таким образом, выявление онкобелка E7 в цервикальном материале служит критерием злокачественности патологического процесса шейки матки, с вероятностью 70% свидетельствует о развитии неопластических процессов в шейке матки. Выявление онкобелка E7 в материале из шейки матки должно быть включено в диагностический процесс раннего выявления РШМ, оценки рациональности интерферонотерапии, оценки эффективности проведенного лечения.

Начиная с июня 2011 года наша лаборатория предлагает несколько вариантов исследования с выявлением онкобелка E7.

ПОЧЕМУ НЕ НУЖНО ПРОВОДИТЬ ТЕСТИРОВАНИЕ НА ВПЧ У МУЖЧИН?

Во-первых, ВПЧ у мужчин — исключительно транзитная инфекция, не приносящая вреда мужскому организму. Несмотря на то, что мужчина является возможным переносчиком вируса папилломы человека, **клинически апробированных и общепризнанных способов лечения не существует**. Обращаем на этот факт внимание тех клиник, которые пытаются лечить транзитное носительство ВПЧ у мужчин. Существующие «процедуры лечения» лишены всякой доказательности, и доказать лечебный эффект на фоне спонтанного излечения практически невозможно.

Во-вторых, непонятно, какой материал является адекватным для обнаружения ВПЧ у мужчин: при взятии соскоба из уретры исследуется лишь небольшой отрезок урогенитального тракта, но рак и неоплазии уретры у мужчин, вызванные ВПЧ, не описаны.

В-третьих, ВПЧ у крайне незначительного процента мужчин может вызывать рак в области головки полового члена и его ствола, но взять анализ на ПЦР со всей поверхности полового члена невозможно, а учитывая, что вирус локализуется в базальном слое эпидермиса — представляется вообще фантастической и безумной идеей (надо буквально сдирать кожу с полового члена, чтобы добраться до вируса).

В-четвертых, злокачественные процессы, вызванные ВПЧ, легко обнаруживаются визуально: любое пятно или бородавчатое разрастание в области полового члена вызывает у всех мужчин беспокойство и немедленное обращение к врачу.

Для лабораторной диагностики сифилиса используют 2 группы методов: определение самого возбудителя (все виды микроскопии и молекулярно-биологические методы (ПЦР, NASBA); серологические реакции. Серологические реакции, в свою очередь, подразделяются на трепонемные и нетрепонемные тесты.

Нетрепонемные тесты

Нетрепонемные тесты определяют антитела класса IgG и IgM к липидам (фосфолипидам), липопротеинам, высвобождаемых из поврежденных клеток хозяина, вследствие сифилитической инфекции и липидам, входящим в состав мембраны бледной трепонемы. Антилипидные антитела могут появляться не только вследствие сифилиса или других трепонематозов, но и в ответ на некоторые острые и хронические заболевания, при которых наблюдается разрушение тканей. Антилипидные антитела (реагины) образуются через 7-14 дней после образования шанкра, или через 4-5 недель после инфицирования. В основном нетрепонемные тесты применяются в двух случаях:

- для скрининга сифилиса как отборочные реакции — в связи с дешевизной, доступностью, простотой и быстрым сроком исполнения;
- по изменению количественных нетрепонемных тестов судят о степени эффективности лечения сифилиса и устанавливают его излеченность. Поэтому нетрепонемные тесты применяются в комбинации с трепонемными тестами для установки диагноза сифилиса и проводятся до начала, в процессе и после окончания лечения в определенные временные интервалы.

Снижение титров нетрепонемных тестов в 4 и более раза в течение года после лечения подтверждает эффективность проведенной терапии сифилиса и является критерием его излеченности (приказ МЗ РФ № 87 от 26.03.01, приказ МЗ РФ № 327 от 25.07.2003, рекомендации CDC (USA) 2006)

В качестве антигена для проведения нетрепонемных тестов (микрореакции преципитации) используется стандартный кардиолипин-лецитин-холестероловый антиген (который является одним из компонентов тканей человеческого организма и содержит липиды, характерные для бледной трепонемы). В случае определения реагинов реакцией связывания компонента (реакции Вассермана), помимо кардиолипинового антигена, применяют еще и ультразвуковой дезинтеграт культуральных трепонем (трепонемный антиген). К нетрепонемным тестам относят:

- тест быстрых реагинов (Rapid Plasma Reagins (RPR), микрореакция преципитации MP);
- VDRL (Venereal Disease Research Laboratory);
- реакция связывания компонента (реакция Вассермана).

Недостатки нетрепонемных тестов

- Ложноотрицательные результаты — при исследовании неразведенных образцов сыворотки, содержащих большое количество антител, за счет т. н. феномена прозоны. Может наблюдаться на ранних стадиях сифилиса и у пациентов с сопутствующей ВИЧ-инфекцией.
- Недостаточная чувствительность для диагностики поздней стадии сифилиса.
- Ложноположительные результаты (биологические ложноположительные реакции) при наличии других острых или хронических заболеваний.

Трепонемные тесты

Как и при нетрепонемных тестах, при проведении трепонемных тестов используется реакция антиген-антитело, но в качестве антигенов применяются трепонемные антигены — либо интактные трепонемы, либо очищенные и обработанные ультразвуком трепонемы, либо рекомбинантные антигены. Для проведения и обнаружения результатов реакции антиген-антитело используют более сложные и дорогие методы. Наиболее часто используются следующие трепонемные тесты.

- реакция иммунофлюоресценции (РИФ) в различных модификациях;
- реакция пассивной агглютинации (РПГА);
- иммуноферментный анализ (ИФА);
- реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ);
- иммуноблотинг.

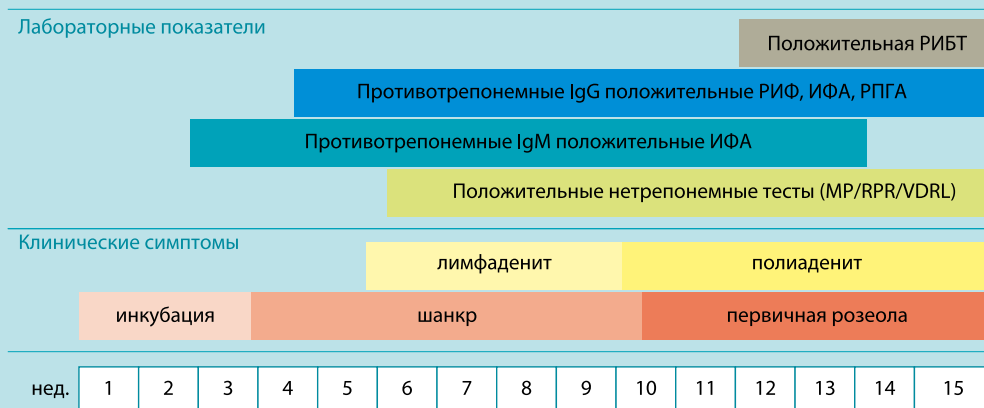
Трепонемные тесты являются подтверждающими сифилис тестами, однако в небольшом числе исследований при их проведении могут встречаться ложноположительные результаты.

Трепонемные тесты применяются только для диагностики сифилиса и не используются для проведения контроля излеченности.

Динамика серологических реакций при сифилисе

Антилипидные (неспецифические) антитела образуются через 7-14 дней после образования шанкра (через 4-5 недель после инфицирования). Специфические противотрепонемные антитела класса IgM обнаруживаются в конце второй недели заболевания. Антитела IgG к трепонемным антигенам появляются приблизительно через 4 недели после начала заболевания. К моменту появления клинических симптомов сифилиса в сыворотке крови можно выявить как специфические IgM, так и специфические IgG (суммарные антитела). Параметры иммунного ответа могут изменяться в результате проводимого лечения. Адекватное лечение раннего сифилиса приводит к быстрому снижению титров неспецифических антител и специфических IgM, при этом **специфические IgG обычно сохраняются в сыворотке крови в течение длительного периода времени, а иногда и всю жизнь.**

Сроки появления положительных серологических реакций при сифилисе в сопоставлении с динамикой клинических симптомов



Интерпретация тестов на сифилис (на примере тестов, выполняемых нашей лабораторией)

РПР	ИФА	РПГА	Интерпретация
-	-	-	нет сифилиса или инкубационный период или очень ранняя стадия сифилиса
+	+	+	нелеченый или недавно леченый сифилис
+	-	-	первичный сифилис или ложноположительный РПР
-	+	+	леченый сифилис или нелеченый поздний сифилис
-	-	+	ложноположительная РПГА
-	+	-	ложноположительный ИФА

**Поздравляем с днем
медицинского
работника!**



сеть медицинских центров



www.dnklab.ru