

МЕТОД ИММУНОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ СИФИЛИСА

Н.И. Сюч

ООО «Медилюкс-ТМ», г. Москва, Россия

Резюме

В проведенном исследовании изучены диагностические возможности метода иммунохемилюминесценции в диагностике сифилиса у пациентов, обратившихся за амбулаторной помощью. Показана высокая диагностическая ценность метода для выявления ранее перенесенного сифилиса. Возможно его использование для скрининга с целью выявления инфицированных лиц. Ложноположительные реакции результатов исследования обусловлены, преимущественно, хроническими заболеваниями, инфекциями или травмой.

Ключевые слова: сифилис, лабораторная диагностика, иммунохемилюминесцентный метод

DOI: 10.58953/15621790_2023_14_1-2_27

IMMUNOCHEMILUMINESCENCE METHOD IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF SYPHILIS

N.I. Syuch

ООО "Medilux-TM", Moscow, Russia

Summary

In the study, the diagnostic capabilities of the immunochemiluminescence method in the diagnosis of syphilis in patients who applied for outpatient care were studied. The high diagnostic value of the method for detecting previously transferred syphilis is shown. Can be used for screening to identify infected individuals. False-positive reactions to syphilis are predominantly due to chronic disease, infection, or trauma.

Keywords: syphilis, laboratory diagnostics, immunochemiluminescent method

Введение

Сифилис – социально значимое заболевание, передаваемое преимущественно половым путем [3]. В контроле за его распространением важную роль занимает скрининг и диагностика заболевания лабораторными методами, что особенно важно при выявлении малосимптомных и скрытых форм. Как и при всех инфекционных заболеваниях, лабораторная этиологическая диагностика сифилиса является комплексной и включает как прямое выявление самого возбудителя (*Treponema pallidum*) или его уникального генетического материала, так и оценку гуморального иммунитета с выявлением специфических антител к наиболее выраженным и характерным антигенам патогена.

Определение антител к антигенам *Treponema pallidum* (серологические методы) включают: неспецифические нетрепонемные тесты – реакция микропреципитации (РМП) или ее аналоги (RPR-тест, VDRL; TRUST) и специфические трепонемные тесты (методы ИФА, РПГА, РИФ_{abc} и РИФ₂₀₀, РИБТ, иммуноблоттинг). Все эти методы утверждены приказом МЗ РФ № 87 от 26.03.2001г. «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса», который обеспечил

планомерный переход от реакции Вассермана к применению ИФА до 2006 года.

Разнообразие методов лабораторной диагностики сифилиса обусловлено не только ограничениями прямого выявления бледной трепонемы, но и стадийностью течения сифилитической инфекции, меняющимся количеством циркулирующих в макроорганизме возбудителей, их доступностью для обнаружения иммунокомпетентными клетками хозяина и связанными с этими колебаниями выраженности гуморального иммунного ответа, оцениваемого преимущественно иммунохимическими методами (серологические исследования) [4].

В лабораториях, проводящих комплексную диагностику сифилиса широкое распространение получил иммуноферментный анализ (ИФА), позволяющий определить специфические антитела к антигенам *Treponema pallidum* в сыворотке/плазме крови, а при диагностике нейросифилиса – в ликворе. В то же время многие автоматические анализаторы зарубежного производства позволяют использовать для скрининга и диагностики сифилиса иммунохемилюминесцентный анализ (ИХЛА). Ограничением метода является

использование реагентов только одного производителя, что связано с методическими особенностями проведения реакции на конкретном анализаторе и различной конструкцией тестов и приборов, а также более высокой стоимостью реагентов.

Иммунохимические методы в качественном формате чаще используются в диагностике инфекционных заболеваний, при которых важен ответ на вопрос «есть или нет» заражение, «есть или нет» антитела к антигенам конкретного инфекционного агента. С помощью количественных методов возможно оценить эффективность терапии и констатировать излечение. Иммунохемилюминесцентные технологии успешно используются в случаях, когда требуется получить воспроизводимый результат в отдаленный период [1].

Цель настоящего исследования — изучить диагностические возможности ИХЛА в лабораторной диагностике сифилиса у пациентов, обратившихся за амбулаторной помощью.

Материалы и методы

Обследовано 87 пациентов (34 мужчины и 53 женщины), преимущественно в возрасте от 40 до 60 лет ($Z_{87;p=0,05}=23$; 73% наблюдений), обратившихся за амбулаторной помощью. Прием терапевта посетили 39 пациентов, гинеколога — 14, травматолога — 11, отоларинголога — 9, хирурга — 6, проктолога — 4, уролога — 4. Большинству пациентов (52 человека) назначено плановое хирургическое лечение, что потребовало предоперационного лабораторного обследования, включающего исследование для выявления маркеров ВИЧ, вирусных гепатитов В и С, сифилиса. Такое обследование также проведено при проведении диспансеризации у 11 сотрудников. У всех пациентов в образцах крови выявлены специфические антитела к возбудителю сифилиса.

В лабораторной диагностике сифилиса использовали электрохемилюминесцентный иммунотест ЕСЛИА, позволяющий выявить общие антитела к бледной спирохете (*Treponema pallidum*) в сыворотке и плазме человека. Исследование проводилось на иммунохимическом анализаторе Cobase411 (РОШ Diagnostikс ГмБХ, Германия).

Принцип метода: Антитела к *T. pallidum*, содержащиеся в сыворотке/плазме крови, реагируют с биотинированными ТР-специфическими антигенами и ТР-специфическими рекомбинантными антигенами, мечеными рутениевым комплексом с образованием сэндвич-комплекса. После добавления частиц, покрытых стрептавидином, образовавшийся комплекс связывается с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина. Реакционная смесь

аспирируется в измерительную ячейку, где микрочастицы оседают на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия. Промыванием удаляются остатки не связавшегося вещества. После этого приложенное к электроду напряжение вызывает хемилюминесцентную эмиссию, измеряемую фотоумножителем.

Результаты определяются автоматически при помощи программного обеспечения путем сравнения электрохемилюминесцентного сигнала пробы со значением сигнала дискриминантного уровня (cut off), предварительно полученного с помощью калибровки. Результат образца выдается либо как реактивный, либо как неактивный, а также в форме индекса дискриминантного уровня (ИДУ, cut off index/COI, отношение сигналов образца/дискриминантного уровня).

Образцы с индексом предельной концентрации <1,00 считают неактивными, они не содержат специфические антитела к *T. pallidum* и не требуют дальнейшего тестирования.

Образцы с индексом предельной концентрации (ИПК) $\geq 1,00$ рассматриваются как реактивные и требуют повторного исследования. Первоначально реактивные образцы, дающие при повторном исследовании значения ИПК $\geq 1,00$ рассматриваются как повторно реактивные и требуют подтверждения в соответствии с рекомендованными подтверждающими алгоритмами.

В процессе исследования нами выделены три уровня реактивности образцов по индексу предельной концентрации: слабо реактивные — ИПК от 1 до 50, образцы со средней степенью реактивности — ИПК от 51 до 100 и высоко реактивные — ИПК выше 100.

У пациентов, образцы которых по результатам исследования отнесены к реактивным (положительная реакция на сифилис), алгоритм дальнейшего обследования включал консультацию инфекциониста и дерматовенеролога, исследование сыворотки крови в субподрядной лаборатории с использованием нетрепонемного (RPR) или трепонемного теста (ИФА).

Достоверность полученных результатов оценивали по критерию знаков ($Z_{x,0,05}=y$), где x — количество наблюдений со знаком «+» или «-», превышение над которыми при данном « n » достаточно, чтобы считать разницу достоверной с уровнем значимости $p=0,05$, а y — количество наблюдений противоположного знака [5].

Результаты исследования

При исследовании образцы 40 пациентов (46%) ранее перенесших сифилис, по данным ИПК отнесены к реактивным. Давность заболевания таких пациентов составляла от 10 до 57 лет. При этом не выявлено корреляции уровня ИПК с давностью перенесенного сифилиса. Большинство образцов по уровню

ИПК у этих пациентов отнесены к слабо реактивным ($Z_{34; p=0,05}=13$; 62%). Результаты нетрепонемного теста (RPR) у этих пациентов были отрицательными. Все пациенты прошли лечение, сняты с учета и имеют справку о проведенном лечении.

Образцы со средней степенью реактивности выявлены у 5 пациентов (15%), высокой степенью — у 8 (23%). Несмотря на наличие справки о проведенном лечении, пациенты с выявленными при обследовании образцами со средней и высокой степенью реактивности направлялись дерматовенерологом на дообследование в КВД по месту жительства. Максимальные значения ИПК у этих пациентов составили $234,2 \pm 6,0$ и $421,0 \pm 10,0$ соответственно, что требовало дообследования и консультации сифилидолога. У этих пациентов выявлены при использовании ИФА антитела IgG (1,3 при норме до 0,99) или положительные значения РПГА (1:80) соответственно.

При обследовании у 4 (4,6%) пациентов сифилис выявлен впервые. Диагностирован вторичный сифилис, подтвержденный результатами положительных нетрепонемных и трепонемных тестов (RPR, IgM и IgG (ИФА), РПГА). Все пациенты проконсультированы инфекционистом и дерматовенерологом и отправлены для лечения в КВД по месту жительства.

Подтвержденные ложноположительные реакции теста для выявления сифилиса выявлены у 23 пациентов (26,4% наблюдений). У всех пациентов результаты RPR теста были отрицательными. По уровню ИПК у большинства пациентов с ложноположительными реакциями тестов для выявления сифилиса образцы сыворотки крови по результатам отнесены к слабо реактивным ($Z_{23; p=0,05}=4$).

Ложноположительные результаты реакции для выявления сифилиса наблюдались у пациентов на фоне сахарного диабета (5), миомы матки (4), травмы (2), гиперплазии предстательной железы (2). У двух пациентов в анамнезе леченый туберкулез. У остальных, соответственно, B_{12} дефицитная анемия, аутоиммунный тиреоидит, астма с преобладанием астматического компонента, папиллярный рак щитовидной железы и некоторые инфекции — ВИЧ, ОРВИ, гепатит В, токсокароз. У 7 пациентов (30%) выяснить причину возникновения ложноположительных результатов реакций не удалось. Образцы со средней степенью реактивности, определенные по ИПК выявлены у пациентов на фоне травмы, ОРВИ и ВИЧ.

У 20 пациентов не удалось выявить причину положительных результатов тестов для диагностики сифилиса, поскольку 13 из них не явились на повторный прием после приглашения, 5 — были направлены на дообследование в КВД и их дальнейшая судьба

неизвестна, у 2-х пациентов получены отрицательные результаты RPR-теста, но в амбулаторной карте отсутствует заключение специалиста. У большинства пациентов этой группы выявлены преимущественно высоко реактивные образцы сыворотки ($Z_{20; p=0,05}=3$, 85%).

Обсуждение результатов

Хемилюминесценция, по данным литературы, обеспечивает наиболее высокую аналитическую чувствительность [4]. Наборы реагентов, разработанные на основе метода иммунохемилюминесценции, обладают высокой чувствительностью и специфичностью (98-100%). Метод легко воспроизводим, относительно прост в исполнении и интерпретации результатов. К числу недостатков метода относят невозможность использования для контроля эффективности лечения, поскольку его результаты длительно остаются положительными.

Проведенное нами исследование показало, что метод иммунохемилюминесценции обладает высокой диагностической ценностью для выявления ранее перенесенного сифилиса (46% пациентов), но может быть использован и для скрининга с целью выявления инфицированных лиц (4,6%). Даже с давностью перенесенного заболевания в 57 лет удается выявить наличие антител (следовые лабораторные положительные реакции на сифилис). Ложноположительные результаты реакции для выявления сифилиса отмечены у 26,4% пациентов и обусловлены, преимущественно, хроническими заболеваниями, инфекциями или травмой. Особого внимания заслуживают пациенты, образцы которых по уровню ИПК отнесены к высоко реактивным. Такие образцы обнаружены даже у ранее переболевших сифилисом с давностью заболевания 15 и 25 лет.

Необходимо разработать четкий алгоритм отслеживания дальнейшей судьбы пациентов, у которых выявлено наличие антител (положительные реакции на сифилис), но не явившихся по вызову на повторный прием. Это важно, тем более, что у этих пациентов наиболее часто (85% случаев) образцы сыворотки крови по уровню ИПК отнесены к высоко реактивным.

Росстат зарегистрировал резкий рост заболеваемости сифилисом в январе 2023 года. Сифилисом в России заболели минимум 2,6 тыс. человек — это на 71% больше, чем за первый месяц прошлого года [2]. Одновременно отмечен рост и других социально значимых заболеваний. Специалисты не исключают неожиданное влияние вируса SARS-CoV-2, поскольку по данным вскрытий в инфекционных больницах констатирована большая распространенность реактивированных форм разных герпес-вирусных инфекций у пациен-

тов, перенесших COVID-19, что может вызывать рост некоторых инфекций органов репродукции. Нельзя исключить и возможность влияния перенесенной коронавирусной инфекции на результаты выявления антител к антигенам *Treponema pallidum* и у пациентов, носителей сифилитической инфекции.

Список литературы

1. Иммунохимический анализ в лабораторной медицине. Учебное пособие / Под ред. В.В. Долгова. - М. - Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2015. - 418 с.

2. Лента новостей для лабораторий // Справочник заведующего КДЛ, 2023, №6.

3. Потекаев Н.Н., Ротанов С.В., Фриго Н.В. и др. Лабораторные методы диагностики сифилиса: пособие для врачей. / М.: Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии, Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента Российской Федерации, Государственный гуманитарно-технический университет, 2020. - 88 с.

4. Потекаев Н.Н., Фриго Н.В., Ротанов С.В. Диагностика сифилиса: от Вассермана до наших дней. Транзит-ИКС, 2018. 256 с.

5. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / Т.1. - Мн.: Беларусь, 2000. - 495 с.