

© О. Е. Пунченко, С. В. Рищук, 2014
УДК 616-002.6-071-085

О. Е. Пунченко

канд. мед. наук

С. В. Рищук

докт. мед. наук

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

Значение серологических тестов в постановке диагноза сифилиса и оценке эффективности его лечения

Возбудитель сифилиса — *Treponema pallidum*, подвид *pallidum* — относится к тем редким микроорганизмам, которые не культивируются на питательных средах и в культуре клеток. Известные трудности возникают в практике при диагностике сифилитической инфекции при отсутствии клинических проявлений, что характерно для скрытого периода заболевания. Прямая детекция этого возбудителя в пораженных тканях возможна не на всех стадиях сифилитической инфекции. Попытки использования молекулярно-генетических тестов потерпели неудачу. В связи с этим, ведущая роль в постановке диагноза и при оценке эффективности лечения принадлежит серологическим методам. Информативность сочетания трепонемных и нетрепонемных тестов нередко зависит от конкретной клинической ситуации.

Ключевые слова: сифилис, *Treponema pallidum*, серологические реакции

Сифилис, возбудителем которого является *Treponema pallidum*, подвид *pallidum*, остается общемировой проблемой здравоохранения. Без своевременного лечения инфекция приводит к инвалидизации и смерти от осложнений у 1/3 заболевших. В США с 2001 г. отмечается небольшой рост сифилитической инфекции, и в 2010 г. сообщалось о 45 тыс. зарегистрированных случаев [1]. В странах Европейского союза каждый год регистрируют чуть более 18 тыс. новых случаев сифилиса, заболеваемость составляет 4,5 на 100 тыс. населения. В Российской Федерации с 2001 г. наблюдают неуклонное снижение заболеваемости сифилисом. За 12 лет число случаев впервые выявленного сифилиса уменьшилось в 4,4 раза и составило в 2012 г., по данным ФБУЗ Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 46 245 случаев, или 32,37 на 100 тыс. населения. В Санкт-Петербурге в 2010 г. зарегистрированная заболеваемость составила 53 на 100 тыс. населения; снизилось число и доля случаев ранних форм сифилиса. Если в 2010 г. первичный сифилис составлял 14,4 % от всех форм, то в 1995 г. доля его была 35,9 %; вторичный сифилис составлял 33,1 и 50,3 % в те же периоды.

Отмечается увеличение доли раннего скрытого сифилиса (36,1 % в 2010 г. по сравнению с 13,8 % в 1995 г.), а также абсолютного числа и доли больных поздним скрытым сифилисом (16,4 и 0,04 %, соответственно).

Скрытое течение сифилиса неблагоприятно как в эпидемиологическом отношении, когда больной не знает о том, что он является источником инфекции, так и для самого больного. Нелеченый сифилис приводит к развитию нейросифилиса и тяжелых осложнений со стороны органа зрения, сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. В Санкт-Петербурге заболеваемость нейросифилисом составляет 1,71 на 100 тыс. населения, что превышает среднероссийский показатель почти в 3 раза. Настораживает тенденция к увеличению доли поздних форм нейросифилиса: в 2010 г. таких выявлено 47 % среди всех форм [2–4]. Закономерна регистрация всё большего числа случаев серорезистентности, — частота возросла в 16 раз после 2000 г.

Важными условиями успешного противодействия сифилису являются его своевременная диагностика и профилактические меры, особенно среди доноров крови и беременных. Главная роль здесь отводится отборочным тестам. Так, при скрининге сифилис выявлен у 4 % беременных и 1 % доноров. Доказано, что в годы снижения заболеваемости сифилисом увеличивается число скрытых форм и отмечается рост забо-

леваемости сифилисом среди детей. Обращает на себя внимание увеличение числа случаев заболевания сифилисом среди беременных и, как следствие — увеличение риска инфицирования новорожденного. Сифилис у беременной женщины приводит к осложнениям и невынашиванию беременности. По данным И. В. Шулаевой и соавт., около половины случаев сифилиса регистрируют у беременных, причем у 85 % выявляют ранний скрытый сифилис, что в 78 % случаев ведет к инфицированию ребенка внутриутробно. В 66,7 % случаев инфекция осложняется хронической фетоплацентарной недостаточностью. У детей, рожденных от больных сифилисом женщин, не получавших лечение, врачи-педиатры отмечают низкую массу тела при рождении, отставание по массе тела до трех лет, низкие показатели физического развития [5]. При заражении ребенка сифилисом интранатальным путем 25 % случаев заканчивается мертворождением, и еще 14 % детей умирают в первые дни жизни.

Из современных особенностей течения заболевания сифилисом необходимо отметить следующие моменты. Наметилась тенденция к удлинению инкубационного периода: если в середине прошлого века он составлял 21–24 дня, то в настоящее время его средняя продолжительность — 30–32 дня. В то же время, у значительного числа обратившихся к врачу пациентов имеется множество «входных ворот». В этих случаях инкубационный период может сократиться до 9 дней.

Как и при любой инфекции, при сифилисе первыми появляются специфические *IgM*, которые можно обнаружить через 7–10 сут после заражения. Они преобладают в количественном отношении в первые 2–3 нед после появления первичного аффекта. *IgG* начинают определяться через 4 нед после инфицирования [6].

В современных условиях сифилитическая инфекция может протекать без явно выраженных симптомов, поэтому во всем мире принято обследовать определенные группы населения на сифилис. Для выявления скрытых форм скрининг проводят среди лиц с высоким риском заражения; для профилактики врожденного сифилиса у ребенка, трижды обследуют беременных; для профилактики инфекций, связанных с переливанием крови, тестируют доноров при каждом взятии крови.

В диагностике сифилиса ведущая роль принадлежит серологической диагностике, так как патогенные *T. pallidum* не растут на питатель-

ных средах и в культуре клеток. В лабораториях мира получены культуральные штаммы бледной трепонемы, но они отличаются по антигенному составу от штамма *Nichols*, культивируемого в яичке кролика, а также имеют отличия морфологии. С развитием электронной микроскопии изучено строение *T. pallidum*. Показано, что она имеет сложный антигенный состав. На сегодняшний день описано 27 разных белков, имеющих молекулярную массу от 12 (сейчас известен как *TrN15*) до 97 кДа.

Белковые и липидные антигены используют при конструировании диагностикумов для поиска сывороточных антител. Некоторые липопротеиды являются сильными иммуногенами, и антитела к ним можно обнаружить уже в конце инкубационного периода. Электронно-микроскопическое исследование замороженных срезов возбудителя показало, что белки цитоплазматической мембраны располагаются внутримембранно между двойным слоем липидов. Количественное содержание белков в цитоплазматической мембране у *T. pallidum* в 100 раз ниже, чем у грамотрицательных микроорганизмов [7]. Они были названы «редкие белки наружной мембраны *T. pallidum*» (*T. pallidum* rare outer membrane proteins, TROMP).

Расшифрован геном трепонем: 17 % генов не уникальны для *T. pallidum*. Обнаружены белки, общие для возбудителя сифилиса и других спирохет, в том числе сапрофитных. Поэтому цельноклеточный антиген, полученный из разрушенной ультразвуком *T. pallidum*, редко используют для серологической диагностики сифилиса.

В современных тест-системах в качестве антигена нашли применение рекомбинантные или синтетические пептиды. Первые получили большее распространение. Но при плохой очистке в смесь антигенов *T. pallidum* попадают белки *Escherichia coli*, что приводит к ложной серодиагностике сифилиса у больных эшерихиозом или здоровых, в сыворотке которых обнаружены антитела к кишечной палочке. Из всех описанных белков в современных диагностикумах используют только те, которые обладают высокой иммуногенностью и специфичны для *T. pallidum* (можно получить перекрестные реакции при эндемичном сифилисе — беджеле и пинте).

Tr15-47 кДа (15, 17, 23, 37, 39, 45, 47) — встроенные в мембрану и флагеллярные белки, большинство из которых специфичны для *T. pallidum*. Отсутствие перекрестных реакций с пятью видами непатогенных трепонем было показано в работе V. Wieher и соавт. [8].

Вырабатываемые на них антитела принадлежат преимущественно классу *IgG*. Наименьшей молекулярной массой обладает белок цитоплазматической мембраны *Trp15*. Во время сифилитической инфекции он вызывает образование *IgM* [9]. *Trp17* представлен, в основном, во внутренней мембране протоплазматического цилиндрического комплекса *T. pallidum*, в небольших количествах он обнаружен на наружной мембране. С определением антител к белкам *Trp47* и *Trp44,5* возлагают надежду для постановки серологического дифференциального диагноза сифилиса и болезни Лайма [10]. В структуре флагелл выделен белок *Trp37*, а *Trp39* считается основным мембранным протеином. Ему принадлежит ведущая роль в запуске иммунного ответа [11].

Первым белком, используемым для иммуноферментного анализа (ИФА), стал трансмембранный протеин *TrpA* (антиген с молекулярной массой 42 кДа). Он является периплазматическим металлосвязывающим протеином и вовлечен в транспорт ионов через цитоплазматическую мембрану. К его концевому фрагменту из 19 аминокислотных остатков антитела наиболее активны и встречаются в сыворотке большинства больных.

Выявлена зависимость между титром антител к *TrpA* и эффективностью терапии. Поэтому его предлагали для оценки качества лечения [12]. Поиск *IgM* к белкам *Trp37* и *Trp47* рассматривается в качестве варианта для постановки диагноза врожденного сифилиса у детей, рожденных от больных матерей [13]. Протеин *Trp47* является цинкзависимой карбоксипептидазой. Он принадлежит к иммунодоминантным белкам, продуцируется в больших количествах и для него не обнаружено перекрестных реакций с белками трепонем-комменсалов [14]. В большинстве современных тест-систем для специфической диагностики сифилиса используют этот белок, чаще в комбинации с другими протеинами. Образование антител к *Trp83* обнаружено только при врожденном сифилисе. Среди фракций *Ig* найдено преобладание *IgG1*, *IgG3* [13].

Антиген *T. pallidum* с молекулярной массой 92 кДа — это белок наружной мембраны, индуцирующий иммунный ответ. Он является мишенью для опсонизирующих антител. Гены, его кодирующие, консервативны в 95,5–100%. Они очень похожи на гены, кодирующие белки мембран целого ряда бактерий, включая спирохету *Borrelia burgdorferi* и возбудителей инфекций, передающихся половым путем, *Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamidia trachomatis* [15].

В экспериментах на морских свинках показано, что первыми в сыворотке появляются полипептиды с молекулярной массой 80–90 кДа и 47 кДа. Через 2 нед регистрировали спектр из 10 белков, молекулярная масса которых составила 18–90 кДа. Через 2 мес наблюдений среди 11 белков обнаружены новые с молекулярной массой 39 и 45 кДа при элиминации белка 90 кДа. Через 90 дней от момента появления первичного аффекта изучено 17 белков с молекулярной массой 14–80 кДа. При определении титра антител к *Trp18*, 45–49, 70 показано, что он выше через 2 мес от начала инфекции, чем через 5 [16].

С помощью ИФА обнаружены существенные различия в иммунной реактивности сывороток крови у больных с активными формами сифилиса и пациентов с сохранившимися положительными серологическими реакциями после полноценного лечения. Позитивация связана с антителами подкласса *IgG1* к *Trp17* и *Trp47*. В то время как при активном сифилисе в исследуемых образцах присутствуют антитела как минимум к трем трепонемным антигенам [17], у больных вторичным сифилисом непропорционально увеличивается фракция *IgG3*.

У 84% больных, леченных при первичном сифилисе, наблюдают исчезновение *IgM*. У нелеченных больных антитрепонемные *IgM* выявляют в течение 8 мес и более, в то время как у адекватно пролеченных больных в стадии первичного сифилиса они исчезают через 3–6 мес, а в случаях лечения поздних стадий сифилиса — в течение года. В связи с этим, предложено оценивать эффективность лечения по их исчезновению.

Разработан и внедрен в практику количественный ИФА *IgM-EIA* для контроля терапии. В опытах выявлено снижение титров у 71 и 92% пролеченных, соответственно [18]. Но в литературе есть данные об отсутствии *IgM* у нелеченных больных с поздними формами сифилиса [19]. Также у 50% больных с латентным или поздним латентным сифилисом *IgM* отсутствовали в сыворотке [20]. Специфические антитрепонемные *IgG1* и *IgG3* можно определять в течение десятков лет после перенесенной инфекции. У 1/3 больных отмечают повышение титра *IgA*. Они не проходят через плаценту и являются маркером врожденного сифилиса.

Серологическая диагностика сифилиса, в отличие от других инфекций, основывается на использовании как специфических трепонемных, так и неспецифических тестов. Сифилитическая инфекция сопровождается образованием им-

мунных комплексов и аутоиммунным ответом на кардиолипин, фибронектин, коллаген и мышечную креатинкиназу [16]. В качестве антигена в нетрепонемных тестах используют раствор трех высокоочищенных липидов (кардиолипин, стабилизированный лецитином и холестерином) в этиловом спирте. Кардиолипин не является специфичным компонентом для *T. pallidum*, а также описан как один из фосфолипидов биомембран человека. Поэтому антитела к этому антигену регистрируют в сыворотке практически при любой альтерации клеток человека в результате инфекций и при некоторых физиологических и патологических состояниях. При сифилитической инфекции антикардиолипиновые антитела появляются в достаточных для определения титрах у 5 % больных через 12 дней от момента появления первичного аффекта [21]. Эти тесты дешевые, поэтому они нашли широкое применение для массового скрининга. В количественном варианте их используют для оценки эффективности терапии и диагностики реинфекции или рецидива. Тесты могут быть отрицательными как в начале заболевания, так и на поздних стадиях.

Из всех предложенных тестов в РФ и мировой практике используют следующие. Макроскопический быстрый плазмореагиновый тест (rapid plasma regain, RPR) с использованием частиц мелкодисперсного угля считается самым чувствительным из нетрепонемных. Тест с непрогретой сывороткой и толуидиновым красным (toluidine red unheated serum test, TRUST), в котором к стабилизированному антигену добавлен азокраситель для лучшей визуализации результата. Veneral Disease Research Laboratory test (VDRL) ставят на стекле с прогретой сывороткой, учет реакции проводят с помощью светового микроскопа. Во флоккуляционном тесте с непрогретой сывороткой (unheated serum reagins,USR) для определения активных реагинов плазмы крови используют стабильный антиген, не нуждающийся в ежедневном приготовлении, а также реагиновый скрининговый тест (reagin screen test, RST). Реакцию микропреципитации (РМП) с плазмой, инактивированной сывороткой крови и спинномозговой жидкостью, проводят в нашей стране. Источником ошибок при постановке неспецифических тестов могут быть неиспользование слабopоложительных контрольных сывороток, неравномерная концентрация антигена в эмульсии из-за недостаточного перемешивания ее перед использованием, контаминация эмульсии и посуды микроорганизма-

ми, нарушение сроков и условий хранения компонентов реакции, нарушение техники взятия крови — изменение соотношения цитрата натрия и крови, а также подмена трехзамещенного цитрата натрия двухзамещенным [22].

Ложноположительные реакции в нетрепонемных тестах подразделяют на острые (длительностью до 6 мес) и хронические. К первым относят физиологические состояния — беременность, инфекции — пневмококковая пневмония, скарлатина, инфекционный эндокардит, туберкулез, лепра, лимфогранулема венерическая, шанкرويد (мягкий шанкр), лептоспироз и другие спирохетозы, ВИЧ, инфекционный мононуклеоз, малярия, ветряная оспа, вирусные гепатиты, паротит, корь. Острые ложноположительные реакции нестойки и негативируются спонтанно. В отличие от них, хронические ложноположительные реакции могут оставаться позитивными в течение всей жизни. Среди причин хронических положительных реакций выделяют физиологические состояния (пожилой возраст), хронические инфекции (туберкулез, лепра, инфекционный эндокардит, малярия), системные заболевания соединительной ткани, миелому, частое использование вводимых внутривенно препаратов, частые переливания и инфузии [23]. При большинстве этих состояний выявляют антикардиолипиновые антитела классов *IgG* и *IgM*, что отличает данный иммунный ответ от трепонемного, при котором *IgM* исчезают к 16-й неделе [19].

После эффективной терапии сифилитической инфекции у большинства больных титры в нетрепонемных тестах снижаются в 4 раза через 6–12 мес после лечения. Однако при позднем начале терапии титры даже в нетрепонемных тестах могут сохраняться на прежнем уровне, но никогда не увеличиваться.

Из трепонемных специфических серологических тестов на сегодняшний день предложено более 20 вариантов, но все они в качестве антигена используют целые клетки или отдельные антигены *T. pallidum* штамма *Nichols* из яйца кролика. В нашей стране в качестве тестов для серологической диагностики разрешено применение реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации (РПГА) и ИФА с использованием культуральных непатогенных трепонем. К ним относятся *T. pallidum* биотип *Reiter*, *T. phagedenis* штамм *Reiter*, *T. refringens* штамм *Noguchi*, *T. vincentii* штамм № 9 и ряд других. Ценность любых тестов с использованием в качестве антигенов культуральных трепонем

нем невелика, так как, например, *T. phagedenis* обладает всего четырьмя общими антигенами с *T. pallidum*. Ответ на эти антигены в силу многочисленности антигенной общности развивается медленнее, поэтому реакции становятся положительными на сроке 11–20 дней после появления шанкра у 10 % больных и сравнимы со специфическими реакциями только на 35-е сутки заболевания [21]. Для диагностики ранних сроков заболевания тесты с использованием антигенов сапрофитных трепонем непригодны в связи с их низкой чувствительностью. Негативация таких реакций идет также замедленно, как и специфических реакций, что лишает их прогностического значения. Иногда на практике можно встретить коммерческие диагностикумы для реакции иммунофлюоресценции (РИФ) с сорбированными на стекле сапрофитными трепонемами.

Из наиболее распространенных специфических трепонемных тестов в мировой практике можно перечислить следующие. В РПГА, *Treponema pallidum* hemagglutination assay (ТРНА), microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* (МНАТР) при положительном результате происходит агглютинация эритроцитов, сенсibiliзированных трепонемным антигеном, в присутствии антитрепонемных антител. Использование в качестве носителя латекса или желатиновых частиц в тесте *Treponema pallidum* particle agglutination (ТРПА) позволяет применять нагрузочный тест в случае лизиса эритроцитов сыворотками некоторых больных, а также придает стабильность реагентам. РИФ (fluorescent treponemal antibody, ФТА) основана на визуализации при люминесцентной микроскопии комплексов антигенов с антителами с помощью сыворотки против Ig человека, меченой флюорохромом. Большее распространение получила модификация РИФ-Абс, перед постановкой которой сыворотка обследуемого истощается смесью непатогенных трепонем для исключения перекрестных реакций. Эту реакцию используют для арбитражных случаев, но для достоверного результата необходима свежая концентрированная взвесь *T. pallidum* штамма *Nichols* из семидневного орхита у кролика, которую нельзя замораживать.

Сложности учета результатов реакции связаны с использованием люминесцентного микроскопа и наличием квалифицированного персонала, так как необходимо просматривать как можно больше полей зрения, обращая внимание на периферию препарата.

ИФА (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) относится к самым чувствительным серологическим реакциям, позволяя выявлять 0,0005 мкг/мл антител и 0,000005 мкг/мл антигенов [24]. В реакции определение комплекса сорбированных на твердой фазе антигенов и антител проводят с помощью антиглобулиновых антител, меченных ферментом. Оценку результатов проводят спектрофотометрически, что исключает субъективную интерпретацию. ИФА представляет возможность выявления сывороточных Ig разных классов. На рынке представлены системы, позволяющие определять отдельно IgM и IgG и суммарные антитела. В качестве вариантов ИФА за рубежом нашли широкое применение enzyme immuno assay (EIA) и система ICE Syphilis. В последней в ячейках планшета сорбирована смесь антител к IgM и IgG, а также трех рекомбинантных белков *T. pallidum*. Положительные результаты тестируются в этой же тест-системе в двух повторях для выдачи окончательного результата.

При использовании линейного варианта ИФА — иммуноблоттинга — белковые детерминанты возбудителя сифилиса разделяют на носителе методом электрофореза, затем его обрабатывают исследуемой сывороткой и антителами к IgG или IgM, меченными ферментами. Для считывания интенсивности окрашивания антигенных полос на стрипах разработаны фотометры, работа которых основана на отражении сигнала, что исключает субъективную оценку и дает потенциальную возможность автоматизации.

В основе модифицированного варианта иммуноблоттинга (тест «Innolia») для обнаружения антител в сыворотке или плазме лежит использование трех рекомбинантных белков (*Trp47*, *Trp17* и *Trp15*) и одного синтетического пептида (*TmpA*), которые нанесены на нейлоновые тест-полоски, фиксированные на подложке из пластика. Варианты с отдельным поиском антител разных классов могут оказаться менее эффективными при некорректном использовании. Так, определение IgM к протеинам с молекулярной массой 15, 17, 41, 47 кДа позволяет выявить 29,2 % больных при вторичном, 12,5 % — при раннем скрытом сифилисе и 8,0 % — при серорезистентности. Поиск IgG к тем же молекулам характеризуется чувствительностью 61,6 % при серорезистентности и 100 % при вторичном и раннем скрытом сифилисе [25]. Разработаны одноэтапные иммунохроматографические тесты (immunochromatographic strips, ICS) для диагностики сифилиса, материалом исследования в

которых служит капиллярная кровь. Нитроцеллюлозные тест-полоски позволяют получить результат в течение 5 мин, поэтому они рекомендованы для применения без наличия лаборатории в местах первичного обследования пациента.

Использование современных тест-систем диктует точное соблюдение всех требований, предъявляемых как к материалу, так и к выполнению постановки реакции. Внедрение внутреннего контроля качества в практику лаборатории позволяет избегать ошибок, которые могут быть допущены при сборе, доставке, хранении проб сыворотки крови, а также при выполнении тестов. Ложноотрицательные результаты бывает достаточно редко и наблюдаются из-за эффекта «прозоны» в агглютинационных тестах в результате избытка антител, а также у больных с иммунодефицитами — чаще у ВИЧ-инфицированных; при эффекте диагностического «окна» из-за задержки синтеза антител [22], а также при ошибках на этапе постановки — не внесение сыворотки в лунку планшета для ИФА.

В соответствии с Приказом МЗ РФ № 87 от 26.03.2001 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса», для скрининга населения на сифилис разрешены РМП или ее зарубежные аналоги (RPR, VDRL), ИФА, РПГА, РИФ в разных модификациях. При положительной РМП результат подтверждают любым специфическим тестом. При скрининге сывороток у больных глазных, психоневрологических, кардиологических стационаров, а также беременных используют ИФА или РПГА. Для контроля донорской крови используют комбинацию тестов — ИФА+РМП или РПГА+РМП. Для диагностики скрытого сифилиса рекомендовано использовать комбинацию двух трепонемных тестов.

За время, прошедшее с момента внедрения Приказа, значительно усовершенствовалась серологическая диагностика сифилиса. Заявленная производителями специфичность и чувствительность тестов, равная 95–99,9 %, дает новые возможности для лабораторий. Высказывается мнение, что «вне зависимости от уровня превалентности сифилитической инфекции в популяции представляется целесообразным проведение скрининга населения на сифилис с применением трепонемных тестов» [26]. Такой вариант — скрининг всех сывороток только с использованием трепонемных тестов, EIA или chemiluminescence immunoassay (CIA) — был предложен в 2006 г. четырем лабораториям в США Центрами по контролю за заболеваемостью (Centers for disease control and preven-

tion, CDC). Остальные лаборатории использовали стандарт диагностики, согласно которому для скрининга лиц с возможной нелеченой сифилитической инфекцией используют нетрепонемные тесты — RPR или VDRL, с последующей постановкой положительных сывороток в трепонемных тестах.

По новому стандарту было обследовано 6 548 сывороток. В результате, 56,7% сывороток, положительных в EIA/CIA, были отрицательны в RPR-тесте. 31,6 % таких сывороток были также отрицательны в TRPA и FTAABS. При этом среди населения с низким риском распространения сифилиса ложноположительные результаты зафиксированы в 2,9 раза чаще. В новом исследовании, которое закончилось в 2010 г., 140 176 сывороток были поделены в зависимости от распространения сифилиса в группах населения. Положительных сывороток в EIA/CIA было 14,5 % среди населения с высоким риском, что в 6,3 раза выше, чем среди населения с низким риском [27]. Похожие результаты были получены и M. G. Hunter и соавт.: 11,3 % сывороток, прореагировавших в CIA, признаны ложноположительными; 80,5 % из этих позитивных сывороток получены от групп населения с высоким риском перенесенной сифилитической инфекции [28].

Таким образом, современным лабораториям в США предложен выбор скрининговых тестов (трепонемные/нетрепонемные) в зависимости от финансирования и риска инфекции среди обследуемых. С положительными сыворотками ставят количественный вариант RPR для оценки назначенной терапии. Отрицательный результат в нетрепонемном тесте трактуется как сифилис в анамнезе, или ложноположительный результат трепонемного теста, или наличие сифилиса в ранней стадии. Подтверждение положительных сывороток, а также все сомнительно прореагировавшие сыворотки исследуют в FTAABS или TRPA. Но так как корреляция между этими двумя тестами равна 99 %, то CDC рекомендуют отдавать предпочтение агглютинационному тесту. Он не требует наличия дополнительного оборудования, квалифицированного персонала, стандартизован и автоматизирован [27].

При выборе отборочных тестов принято ориентироваться на диагностическую точность теста и его эффективность. Экспресс-тесты, рекомендованные разработчиками для постановки «у постели больного», имеют чувствительность 84,5–97,7 % (более чувствительны с сывороткой, чем с цельной кровью) и специфичность 92,8–98 %. При стоимости 30–120 руб. за тест

и возможности получения результатов через 5–20 мин, эти тесты не требуют оборудования и квалифицированного персонала [18].

Как правило, результата скрининговых тестов бывает недостаточно для окончательной постановки диагноза, но они необходимы, чтобы наметить тактику дальнейших действий. Важной технической характеристикой теста является его способность выявить заболевание, поэтому, на первый взгляд, нетрепонемные тесты являются неприемлемыми для скрининга. Однако в группе лиц с высоким распространением сифилиса в анамнезе начало скрининга с трепонемного теста заведомо приведет к большому количеству ложноположительных реакций. Попытки отличить сифилис в анамнезе от нового заболевания с помощью трепонемных тестов претерпели неудачу. В частности, описано 211 случаев положительной РПГА в течение года после лечения сифилиса при негативации РМП [29].

Обычно при выборе теста для отбора подозрительных сывороток ограничиваются такими характеристиками, как чувствительность — доля положительных результатов у больных, и специфичность — доля отрицательных результатов теста у здоровых пациентов. Высокая чувствительность теста позволяет максимально исключить заболевания. Также высокая чувствительность важна при скрининге беременных женщин и доноров крови из-за серьезных последствий в случае недостаточной диагностики сифилиса. При тестировании населения с низкой распространенностью заболевания имеет значение максимальная специфичность теста, так как такие тесты наиболее пригодны для подтверждения болезни.

Значительно реже при выборе теста используют такие характеристики, как положительное и отрицательное прогнозируемое значение. Положительное прогнозируемое значение (ППЗ) — это вероятность заболевания при положительном результате. Отрицательное прогнозируемое значение (ОПЗ) — это вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате. Эти характеристики должны являться решающими при выборе скринингового теста, так как их значения зависят не только от чувствительности и специфичности, но и от распространенности заболевания среди разных групп населения. Знание этих параметров в значительной степени облегчит задачу врачу в постановке диагноза пациенту без явных проявлений сифилитической инфекции. По мере уменьшения распространенности заболевания,

доля лиц с положительными результатами теста, которые действительно инфицированы, падает, а доля неинфицированных лиц, которые ошибочно идентифицируются как инфицированные, возрастает.

Использование тестов с высокими ППЗ желательно в условиях, когда ошибка в диагностике может иметь серьезные психологические и экономические последствия. При низком уровне распространенности сифилиса в популяции положительный результат скринингового теста не всегда указывает на заболевание, следовательно, может потребоваться дальнейшее более углубленное тестирование. И наоборот, в такой ситуации отрицательный результат чаще всего указывает на отсутствие у пациента заболевания. Следовательно, высокий уровень диагностической чувствительности и очень высокий уровень ОПЗ являются наиболее важными характеристиками качества скринингового теста [30]. Именно поэтому при выборе скринингового теста на сифилис рекомендуют оценивать местную эпидемическую ситуацию и возможности конкретной лабораторной службы. При этом в популяции с низким уровнем инфекции (соматические стационары, поликлиники, кабинеты медицинских осмотров) обследование предпочтительнее проводить с помощью трепонемного теста, так как при этом можно сразу выделить группу больных или пациентов, перенесших в прошлом сифилис. Результаты скрининга перепроверяются в альтернативном трепонемном тесте с параллельной постановкой нетрепонемного теста.

Скрининговое обследование на сифилис группы лиц с высоким уровнем превалентности инфекции в популяции (работники коммерческого сектора, заключенные) целесообразно начинать с нетрепонемного теста. В каждом случае положительного ответа для подтверждения необходимо проводить трепонемные тесты. Ввиду возможности появления поздних форм сифилиса среди больных офтальмологических, психоневрологических, кардиологических стационаров, необходимо использовать РМП в сочетании с любой разрешенной к использованию реакцией в зависимости от возможностей клиничко-диагностической лаборатории лечебно-профилактической организации. Лиц с клиническими проявлениями первичного сифилиса целесообразнее обследовать в РМП, РИФ-Абс или, при наличии такой возможности, в ИФА-IgM с зарегистрированной тест-системой. Пациентов без клинических проявлений заболевания с по-

дозреением на скрытый сифилис необходимо обследовать с помощью нетрепонемного, а также двух трепонемных тестов. При этом возможны комбинации — ИФА+РПГА, РИФ+РПГА [22]. В сомнительных ситуациях важно учитывать, что в литературе не описаны положительные результаты нетрепонемных тестов при отрицательных трепонемных у больных сифилисом.

Для контроля излеченности от сифилиса во всем мире используют нетрепонемные тесты. Наблюдение за динамикой титра антикардиолипидных антител проводят в том тесте, который был применен при постановке диагноза. Для VDRL снижение титра в 4 раза и более наступает через 6 мес у 48 % и через 12 мес у 70 % пролеченных больных. По мере увеличения времени с момента заражения, титры нетрепонемных тестов могут снижаться без лечения, а у 25 % больных негитивируются в третичной стадии [31]. На скорость снижения титров антикардиолипидных антител оказывает влияние выбор препарата для лечения сифилиса. Так, при назначении натриевой соли бензилпенициллина титры антител уменьшаются быстрее всего, самую замедленную негитивацию наблюдают при лечении дюрантными препаратами [29]. Применение для контроля за терапией трепонемных тестов показало противоречивые результаты. Так, при постановке диагноза начальный титр в ТРРА был более 1/80. Через 429 дней после лечения у 55 % пролеченных зарегистрировано

снижение титра, у 14 % он остался на прежнем уровне, а у 2 % повысился [32].

У 2–5 % больных после проведенного лечения титры в нетрепонемных тестах не снижаются, что получило название серорезистентности. Причина развития серорезистентности остается неизученной, однако доказано, что чем позже начато лечение, тем чаще развивается серорезистентность. У этих больных обнаружено повышение уровня *INF-γ*, что отражает преобладание иммунорегуляции по *Th-1* типу [25]. Серорезистентность может быть связана с разными причинами, в том числе с антифосфолипидным синдромом — развитием аутоиммунной реакции и появлением антител к широко распространенным фосфолипидным детерминантам, присутствующим на мембранах тромбоцитов, клетках эндотелия, нервной ткани. Существует генетическая предрасположенность к гиперпродукции антифосфолипидов, которая связана с носительством антигенов *HLADR7*, *DQBj*, *DR4*, а также нулевого аллеля Сф [33].

Таким образом, серологические тесты остаются на сегодняшний день единственными методами лабораторного подтверждения сифилиса, а также играют решающую роль в определении лечебной тактики и в оценке эффективности терапии. При этом, в зависимости от клинической ситуации, целесообразно сочетанное применение нетрепонемных и специфических трепонемных тестов.

Литература

1. *Emergency medicine reports // Pract. J. Emergency Physic.* 2012. Vol. 33. № 13. P. 145–155.
2. Шенило С. А., Разнатовский К. И., Александров Н. Ю. Эпидемиология нейросифилиса в Санкт-Петербурге // Фундаментальные исследования. 2012. № 8. С. 184–189.
3. Агаев Р. А., Гайворонская О. В., Горланов И. А. и др. Анализ заболеваемости сифилисом в Ленинградской области и Санкт-Петербурге на современном этапе // Журн. инфектол. 2011. Т. 3. № 2. С. 40–46.
4. Агаев Р. А., Горланов И. А., Никифоров Б. Н. и др. Динамика и тенденции течения скрытых форм сифилиса и развития серорезистентности в Ленинградской области и Санкт-Петербурге на современном этапе // Журн. инфектол. 2011. Т. 3. № 3. С. 18–25.
5. Шулаева И. В., Попова Л. Ю., Воронина Л. Г., Поршина О. В. Особенности физического развития детей с врожденным сифилисом // Практич. мед. 2012. № 7 (62). С. 161–162.
6. Красносельских Т. В., Соколовский Е. В. Патогенез и современные особенности клинической картины приобретенного сифилиса (ч. 1) // Непрерывное последипломное образование. 2010. № 2. С. 73–76.
7. Blanco D. R., Miller J. N., Lovett M. A. Surface antigens of the syphilis spirochete and potential as virulence determinants // Emerg. Infect. Dis. 1997. Vol. 3. № 1. P. 11–20.
8. Wieher V., Zabek J., Wieher K. Pathogen-specific humoral response in *Treponema pallidum*-infected humans, rabbits, and guinea pigs // J. Infect. Dis. 1991. № 163 (4). P. 860–836.
9. Lewis L. L. Evaluation of immunoglobulin M western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis // J. clin. Microbiol. 1990. Vol. 28. № 2. P. 296–302.
10. Gerber A., Krell S., Morenz J. Recombinant *Treponema pallidum* antigens in syphilis serology // Immunobiology. 1996–1997. Vol. 196. № 5. P. 535–549.
11. Norris S. J. Polypeptides of *Treponema pallidum*: progress toward understanding their structural, functional and immune roles // Microbiol. rev. 1993. Vol. 57. № 3. P. 750–779.

12. *Antoni J.* Detection of antigenic determinants in the *Treponema pallidum* membrane protein TmpA using overlapping synthetic peptides // *J. Immunol. Meth.* 1996. Vol. 189. № 1. P. 137–140.
13. *Dobson S. R. M., Taber L. H., Baughn R. E.* Recognition of *Treponema pallidum* antigens by IgM and IgG antibodies in congenitally infected newborns and their mothers // *J. Infect. Dis.* 1998. № 157 (5). P. 903–910.
14. *Radolf J. D., Robinson E. J., Bourell K. W.* Characterization of outer membranes isolated from *Treponema pallidum*, the syphilitic spirochete // *Mol. Microbiol.* 1995. Vol. 63. № 11. P. 4244–4252.
15. *Cameron C. E., Lukehart S. A., Castro C. et al.* Opsonic potential, protective capacity, and sequence conservation of the *Treponema pallidum* subspecies *pallidum* Trp92 // *J. Infect. Dis.* 2000. № 181. P. 1401–1413.
16. *Wicher K., Jakubowski A., Wicher V.* Humoral response in *Treponema pallidum*-infected guinea pigs: I. Antibody specificity // *Clin. exp. Immunol.* 1987. № 68. P. 263–270.
17. *Иванов А. М., Ходосевич Е. В., Теличко И. Н. и др.* Серологическая диагностика сифилиса: возможности повышения информативности // *Журн. акуш. и жен. болезней.* 2004. Т. LIII. С. 126–127.
18. *Sena A. C., White B. L., Sparling P. F.* Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century // *CID.* 2010. № 51. P. 700–707.
19. *Shennon R., Copley C. G., Morrison G. D.* Immunological responses in late syphilis // *Brit. J. Venereal Dis.* 1980. Vol. 56. № 6. P. 372–376.
20. *Muller F.* Immunological and laboratory aspects of treponematoses // *Dermatologica.* 1984. Vol. 170. № 6. P. 357–366.
21. *Пунченко О. Е.* Серологические и иммунологические способы диагностики первичного и вторичного сифилиса: Дис. канд. мед. наук. СПб., 2003.
22. *Клиническая лабораторная диагностика: Нац. рук. (в 2-х т.)* / Под ред. В. В. Долгова и др. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2012. Т. 2. С. 506; 514–516.
23. *Ho K. K.* Review on serologic diagnosis of syphilis // *Hong Kong dermatol. venerol. bull.* 2002. Vol. 10. № 1. P. 10–18.
24. *Волина Е. Г.* Глава из Руководства по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. Кн. 1 / Под ред. А. С. Лабинской, Е. Г. Волиной. М.: Бином, 2008. С. 554.
25. *Сердюцкая М. В., Иванов А. М., Криворучко А. Б. и др.* Эффективность иммуноблоттинга при дифференциальной диагностике сифилиса у беременных // *Журн. инфектол.* 2009. Т. 1. № 2/3. С. 43–47.
26. *Ротанов С. В., Османова С. Р.* Современные методы первичного обследования для выявления больных сифилитической инфекцией в Российской Федерации // *Вестн. дерматол. и венерол.* 2011. № 6. С. 18–24.
27. *Centers for Disease Control and Prevention: Morbidity and Mortality Weekly Report.* 2011. Vol. 69. № 5. P. 133–137.
28. *Hunter M. G., Robertson P. W., Post J. J.* Significance of isolated reactive *treponema* chemiluminescence immunoassay results // *J. Infect. Dis.* 2013. № 207 (9). P. 1416–1423.
29. *Чеботарев В. В., Чеботарева Н. В.* Последствия эпидемии сифилиса в России и пути ее решения // *Соврем. пробл. дерматовенерол., иммунол. и врач. косметол.* 2010. № 5. С. 5–9.
30. *Морс С. Л., Бек-Сагю К. М., Мардх П. Л.* Рекомендации по лабораторной диагностике ЗППП // *ЗППП.* 1998. № 4. С. 3–16.
31. *Hart G., Rothenberg R. B.* Syphilis tests in diagnostic and therapeutic tests // *Ed. Sox H. C. USA.* 1990. P. 302–325.
32. *Bosshard P. P., Graf N., Knaute D. F. et al.* Response of *Treponema pallidum* particle agglutination test titers to treatment of syphilis // *Clin. Infect. Dis.* 2013. № 56 (3). P. 463–464.
33. *Баткаева Н. В.* Эпидемиологические особенности сифилитической инфекции в настоящее время // *Практич. мед.* 2009. № 5 (37). С. 84–93.

O. E. Punchenko, S. V. Rishchuk

I. I. Mechnikov North-West Medical University, St. Petersburg

Value of serological tests in syphilis diagnosis and evaluation effectiveness of its treatment

The causative agent of syphilis — *Treponema pallidum*, subspecies *pallidum* — is one of those rare ones that are not cultivated in culture media and in cell culture. The difficulties arise in practice in the diagnosis of syphilis infection, especially in the absence of clinical symptoms, which is typical for the latent period of the disease. Direct detection of the pathogen in infected tissues is possible not at all stages of syphilis infection. Attempts to develop molecular genetic tests failed. Therefore serological methods have a leading role in the diagnosis and assessment of treatment effectiveness. Validity of serological nontreponemal and treponemal tests depends on patient's condition and previous history.

Key words: *syphilis, Treponema pallidum, serological tests*