

## ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ СИФИЛИСА (НАУЧНЫЙ ОБЗОР)

О.Е. Пунченко, С.В. Ришук

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

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. Тел. 8(812)303-51-00, e-mail: rectorat@spbmapo.ru

### Реферат

Иммуноферментный анализ занимает лидирующие позиции среди серологических методов при диагностике самых различных заболеваний, в том числе сифилиса. Уникальность этого метода заключается в том, что в зависимости от диагностической системы его можно применять как на этапах скрининга, так и для подтверждения диагноза. На сегодняшний день описаны и изучены главные антигены возбудителя сифилиса, которые нашли применение в современных тест-системах. Несмотря на заявленную чувствительность и специфичность тестов, приближающиеся к 100%, остается ряд нерешенных проблем в диагностике некоторых форм сифилиса и при контроле излеченности. Серологические тесты продолжают оставаться основным методом диагностики сифилиса, так как возбудитель не растет на питательных средах. Выбор конкретных иммуноферментных тест-систем зависит от распространенности сифилиса в популяции, стадии заболевания и оснащенности лаборатории.

**Ключевые слова:** иммуноферментный анализ, серологическая диагностика, сифилис, *Treponema pallidum*.

Иммуноферментный анализ (ИФА) является одним из многочисленных методов серологической диагностики инфекционных заболеваний. Но благодаря высокой чувствительности и специфичности, приближающимся к 100%, воспроизводимости, а также возможности автоматизации, он завоевал популярность во всех странах. Разработанный в 1970-х гг. ИФА за относительно короткое время превратился из ориентировочного теста в подтверждающий, особенно при диагностике вирусных инфекций. Вариант твердофазного ИФА (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) относится к самым чувствительным серологическим реакциям, позволяя выявлять 0,0005 мкг/мл антител (АТ) и 0,000005 мкг/мл антигена (АГ) [2]. В реакции определения комплекса сорбированных на твердой фазе АГ и АТ проводят с помощью антиглобулиновых АТ, меченных ферментом, по цветной реакции фермента с субстратом. Оценка результатов проводится спектрофотометрически, что исключает субъективную интерпретацию. ИФА представляет возможность выявления сывороточных иммуноглобулинов (Ig) различных классов. На рынке представлены системы, позволяющие определять раздельно IgM и IgG и суммарные АТ. Закономерной является активная разработка новых тест-систем для заболеваний, возбудители которых не культивируются на питательных средах. Примером такого заболевания может служить сифилис.

Сифилис – это хроническая инфекция, вызываемая бактериями из рода *Spirochaetaceae*, вид *Treponema pallidum*, подвид *pallidum*. Заболевание характеризуется разнообразной клинической картиной на сменяющихся друг друга стадиях инфекции. И только при наличии первичного аффекта – твер-

дого шанкра – возбудителя удается визуализировать с помощью микроскопии в темном поле. Все случаи культивирования *T. pallidum* подвид *pallidum* потерпели неудачу, так как полученные в искусственных условиях трепонемы утрачивали патогенность. В то же время несвоевременная диагностика сифилиса, ведущая к позднему началу лечения, приводит к инвалидизации и смерти от осложнений у трети заболевших. На современном этапе в г. Санкт-Петербурге заболеваемость сифилисом, по официальным данным, составляет 53 на 100 000 населения. Обращает на себя внимание снижение количества и доли случаев ранних форм сифилиса: 36,1% в 2010 г. по сравнению с 13,8% в 1995 г., а также абсолютного количества 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. Нелеченный сифилис приводит к развитию нейросифилиса и тяжелых осложнений со стороны органа зрения, сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. В г. Санкт-Петербурге заболеваемость нейросифилисом составляет 1,71 на 100 000 населения, что превышает среднероссийский показатель почти в 3 раза. Настораживает тенденция к увеличению поздних форм нейросифилиса: в 2010 г. таких выявлено 47% среди всех форм [1, 3, 10]. Одним из условий успешного противодействия сифилису является его своевременная диагностика и проведение профилактических мероприятий, особенно среди доноров крови и беременных. Главная роль здесь отводится отборочным тестам. Так, при проведении скрининга на сифилис он выявлен

у 4% беременных и 1% доноров. Главное требование трансфузиологии наших дней — увеличение безопасности переливания крови и ее компонентов для реципиента и недопустимости распространения таким образом инфекции. Возрастающее увеличение использования компонентов свежей крови вместо цельной крови является потенциальным фактором риска, так как через них может передаваться *T. pallidum* реципиенту, что увеличивает риск развития посттрансфузионного сифилиса.

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 количества обратившихся к врачу пациентов имеется в наличии 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 суток после заражения. Они преобладают в количественном отношении в первые 2–3 недели после появления первичного аффекта. IgG начинают определяться через 4 недели после инфицирования [5]. 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; с целью профилактики инфекций, связанных с переливанием крови, тестируют доноров при каждом взятии крови.

В постановке диагноза больным сифилисом ведущая роль принадлежит серологической диагностике, так как патогенные *T. pallidum* не растут на питательных средах и в культуре клеток. В лабораториях мира получены культуральные штаммы бледной трепонемы, но они отличаются по антигенному составу от штамма Nichols, культивируемого в орхите кролика, а также имеют отличия по морфологии. В нашей стране в качестве теста для серологической диагностики разрешено применение ИФА с использованием в качестве АГ 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 АГ культуральных трепонем невелика, так как, например, *T. phagedenis* обладает всего 4 общими АГ с *T. pallidum*. Ответ на эти АГ в силу немногочисленности 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 [7]. Для диагностики ранних сроков заболевания тесты с использованием АГ сапрофитных трепонем непригодны в связи с их низкой чувствительностью. Негативация таких реакций идет также замедленно, как и специфических реакций, что лишает их прогностического значения.

С развитием иммунологии и электронной микроскопии изучено строение *T. pallidum* подв. *pallidum*. Показано, что она имеет сложный антигенный состав. На сегодняшний день описано 27 различных белков, имеющих молекулярную массу от 12 (сейчас известен как TrN 15) до 97 кДа. Tr15–47 кДа (15, 17, 23, 37, 39, 45, 47) — встроенные в мембрану и флагеллярные белки, большинство из которых являются специфическими для *T. pallidum*. Отсутствие перекрестных реакций с пятью видами непатогенных трепонем было показано в работе V. Wieher et al. [27]. Вырабатываемые на них АТ преимущественно принадлежат классу IgG. Наименьшей молекулярной массой обладает белок цитоплазматической мембраны Tr 15. Во время сифилитической инфекции он вызывает образование IgM [18]. Tr 17 в основном представлен во внутренней мембране протоплазматического цилиндрического комплекса *T. pallidum*, в небольших количествах он обнаружен на наружной мембране. С определением АТ к белкам Tr 47 и Tr 44,5 возлагают надежду для постановки серологического дифференциального диагноза сифилиса и болезни Лайма [16]. В структуре флагелл выделен белок Tr 37, а Tr 39 считается основным мембранным протеином. Ему принадлежит ведущая роль в запуске иммунного ответа [20]. Первым белком, используемым для ИФА, стал трансмембранный протеин TmpA (АГ с молекулярной массой 42 кДа). Он является периплазматическим металлотсвязывающим протеином и вовлечен в транспорт металлов через цитоплазматическую мембрану. К его концевому фрагменту из 19 аминокислотных остатков АТ наиболее активны и встречаются в сыворотке большинства больных. Выявлена зависимость между титром АТ к TmpA и эффективностью терапии. Поэтому он предлагался для использования с целью оценки качества лечения [12]. Поиск IgM к белкам Tr 37 и Tr 47 рассматривается в качестве варианта для постановки диагноза врожденного сифилиса у детей, рожденных от больных матерей [15]. Протеин Tr 47 является цинк-зависимой карбоксипептидазой. Он принадлежит к иммунодоминантным белкам, продуцируется в больших количествах и для него не обнаружено перекрестных реакций с белками трепонем-комменсалов [22]. В большинстве современных тест-систем для специфической диагностики сифилиса используют этот белок, чаще в комбинации с другими протеинами. Образование АТ к Tr 83 обнаружено только при врожденном сифилисе, а среди фракций иммуноглобулинов найдено преобладание IgG1, IgG3 [15]. 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% случаев. 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* [21]. В экспериментах на морских свинках показано, что первыми в сыворотке появляются полипептиды с молекулярной массой 80–90 кДа и 47 кДа. Через 2 недели регистрировался спектр из 10 белков, молекулярная масса которых составила от 18 до 90 кДа.

Через 2 месяца наблюдений среди 11 белков обнаружены новые с молекулярной массой 39 и 45 кДа на фоне элиминации белка 90 кДа. Через 90 дней от момента появления первичного аффекта изучено 17 белков с молекулярной массой от 14 до 80 кДа. При определении титра АТ к Тр 18, 45-49, 70 показано, что он выше через 2 месяца от начала инфекции, чем через 5 [26].

Белковые и липидные антигены используют при конструировании диагностикумов для поиска сывороточных АТ. Некоторые липопротеины являются сильными иммуногенами, и АТ 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 грам-отрицательных микроорганизмов [13]. 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 АГ, полученный из разрушенной ультразвуком *T. pallidum*, редко используется для серологической диагностики сифилиса. В современных тест-системах в качестве АГ нашли применение рекомбинантные или синтетические пептиды. Первые получили большое распространение. Но при плохой очистке в смесь АГ *T. pallidum* попадают белки *Escherichia coli*, что приводит к ложной серодиагностике сифилиса у больных коли-инфекцией или здоровых, в сыворотке которых обнаружены АТ к кишечной палочке. Поэтому основной проблемой таких тест-систем стала очистка рекомбинантных белков от АГ *E. coli*. В качестве альтернативы сыворотка перед использованием должна адсорбироваться с микроорганизмом-продуцентом для предотвращения фонового ответа недопустимо высокого уровня. Оба этих метода имеют потенциальные недостатки: адсорбция анти – *E. coli* АТ не всегда постоянно воспроизводится, что ведет к фоновым вариациям, а очистка рекомбинантного белка для исключения реакции к хозяину клона *E. coli* может оказаться очень дорогой. В пептидных системах из всех описанных белков в современных диагностикумах используют только те, которые обладают высокой иммуногенностью и специфичны для *T. pallidum*, хотя и в этом случае можно получить перекрестные реакции при эндемичном сифилисе, беджеле и пинте.

С помощью ИФА обнаружены существенные различия в иммунологической реактивности сывороток крови у больных с активными формами сифилиса и пациентов с сохранившимися положительными серологическими реакциями после полноценного лечения. Позитивация связана с АТ подкласса IgG1 к Тр 17 и Тр 47, в то время как при активном сифилисе в исследуемых образцах присутствуют АТ как минимум к трем трепонемным АГ [8]. У больных вторичным сифилисом непропорционально увеличивается фракция IgG3. У 84% больных, леченных

в первичном сифилисе, наблюдается исчезновение IgM. У нелеченных больных антитрепонемные IgM выявляются в течение 8 месяцев и более, в то время как у адекватно пролеченных больных в стадии первичного сифилиса они исчезают через 3–6 месяцев, 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 (enzyme immune assay) для контроля терапии, с помощью которого выявлено снижение титров у 71% и 92% пролеченных соответственно [24]. Но в литературе есть данные об отсутствии IgM у нелеченных больных поздними формами сифилиса [25]. Также у 50% больных латентным или поздним латентным сифилисом IgM отсутствовали в сыворотке [19]. Специфические антитрепонемные IgG1 и IgG3 можно определять в течение десятков лет после перенесенной инфекции. У трети больных отмечается повышение титра IgA. Они не проходят через плаценту и являются маркером врожденного сифилиса.

В качестве вариантов ИФА за рубежом нашли широкое применение enzyme immune assay (EIA) и система ICE Syphilis. В последней в ячейках планшета сорбирована смесь АТ к IgM и IgG, а также 3 рекомбинантных белка *T. pallidum*. Положительные результаты тестируются в этой же тест-системе в 2 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, мечеными 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 АТ в сыворотке или плазме лежит использование 3 рекомбинантных белков (Tr47, Tr17 и Tr15) и 1 синтетического пептида (TmprA), которые нанесены на нейлоновые тест-полоски, фиксированные на подложке из пластика. Варианты с отдельным поиском АТ разных классов могут оказаться менее эффективными при некорректном использовании. Так, определение IgM к протеинам с молекулярной массой 15, 17, 41, 47 кДа позволяют выявить 29,2% больных при вторичном сифилисе, 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 [11]. 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 минут, 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 внешнего и внутреннего контролей 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 бывают достаточно редко и наблюдаются у больных с иммунодефицитами — чаще у ВИЧ-инфицированных и при эффекте диагностического «окна» из-за задержки синтеза АТ [4], а также при ошибках на этапе постановки — не внесение сыворотки в лунку планшета для ИФА.

Проведение скрининга населения на сифилис с применением только трепонемных ИФА-тестов является несколько преждевременным, что хорошо видно из опыта зарубежных лабораторий. Такой вариант — скрининг всех сывороток только с использованием трепонемных тестов, ЕИА или chemiluminescence immunoassay (CIA) — был предложен в 2006 г. четырем лабораториям в США Центрами по контролю за заболеваемостью (Centers for disease control and prevention, CDC). Остальные лаборатории использовали стандарт диагностики, согласно которому для скрининга лиц с возможной нелеченной сифилитической инфекцией используются нетрепонемные тесты с последующей постановкой положительных сывороток в трепонемных тестах. По новому стандарту было обследовано 6548 сывороток. В результате 56,7% сывороток, положительных в ЕИА/СИА, были отрицательны в тесте с кардиолипином. 31,6% таких сывороток были также отрицательны в реакции агглютинации и реакции иммунофлюоресценции с абсорбцией. 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 ЕИА/СИА было 14,5% среди населения с высоким риском, что в 6,3 раза выше, чем среди населения с низким риском [14]. Похожие результаты были получены M.G. Hunter et al.: 11,3% сывороток, прореагировавших в СИА, признаны ложноположительными; 80,5% из этих позитивных сывороток получены от групп населения с высоким риском перенесенной сифилитической инфекции [17]. 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 кардиолипинового теста 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 других специфических реакциях [14].

При выборе отборочных тестов принято ориентироваться на диагностическую точность теста и его эффективность. Экспресс-тесты, рекомендованные разработчиками для постановки «у постели больно-

го», имеют чувствительность 84,5–97,7% (более чувствительны с сывороткой, чем с цельной кровью) и специфичность 92,8–98%. При относительно невысокой стоимости и возможности получения результатов через 5–20 минут эти тесты не требуют оборудования и квалифицированного персонала [24]. 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 неприемлимыми 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 потерпели неудачу [9].

Обычно при выборе теста для отбора подозрительных сывороток ограничиваются такими характеристиками, как чувствительность (процент положительных результатов у больных), и специфичность (процент отрицательных результатов теста у здоровых пациентов). Высокая чувствительность теста позволяет максимально исключить заболевание. 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 процент лиц с положительными результатами теста, которые действительно инфицированы, падает, а процент 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 отрицательных прогнозируемых значений являются наиболее важными характеристиками качества скринингового теста [6]. Именно поэтому при выборе скринингового теста на сифилис рекомендуют оценивать местную эпидемиологическую 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 секса, 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 кардиолипидные реакции в сочетании с любой разрешенной к использованию реакцией в зависимости от возможностей клинико-диагностической лаборатории лечебно-профилактической организации. Лиц с клиническими проявлениями первичного сифилиса целесообразнее обследовать в ИФА-IgM с зарегистрированной тест-системой. Пациентов без клинических проявлений заболевания с подозрением на скрытый сифилис необходимо обследовать с помощью нетрепонемного, а также двух трепонемных тестов. При этом возможны различные комбинации [4]. 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. Применение для контроля за терапией трепонемных тестов показало противоречивые результаты: титр АТ может снизиться (55% пролеченных), остаться на прежнем уровне (у 14%) или даже повыситься (у 2%) [23].

ИФА играет важную роль в диагностике сифилиса. Существующие на рынке разнообразные системы для экспресс-диагностики и подтверждения диагноза, раздельного и суммарного определения иммуноглобулинов диктуют определенные требования к квалификации врачей-бактериологов. Ограничением для применения ИФА может явиться время и стоимость тестирования небольшого количества проб.

#### Литература

1. Анализ заболеваемости сифилисом в Ленинградской области и Санкт-Петербурге на современном этапе / Р.А. Агаев [и др.] // Журнал инфектологии. — 2011. — Т. 3, № 2. — С. 40–46.
2. Волина, Е.Г. Методы определения основных параметров иммунного статуса макроорганизма и

серодиагностика инфекционных болезней / Е.Г. Волина ; под ред. А.С. Лабинской, Е.Г. Волиной. — М. : БИНОМ, 2008. — Гл. 16. — С. 513–556.

3. Динамика и тенденции течения скрытых форм сифилиса и развития серорезистентности в Ленинградской области и Санкт-Петербурге на современном этапе / Р.А. Агаев [и др.] // Журнал инфектологии. — 2011. — Т. 3, № 3. — С. 18–25.

4. Клиническая лабораторная диагностика : нац. рук-во: в 2 т. / под ред. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. — М. : ГОЭТАР-Медиа, 2012. — Т. 2 — С. 506, 514–516.

5. Красносельских, Т.В. Патогенез и современные особенности клинической картины приобретенного сифилиса (часть 1) / Т.В. Красносельских, Е.В. Соколовский // Непрерывное последипломное образование. — 2010. — № 2. — С. 73–76.

6. Морс, С.Л. Рекомендации по лабораторной диагностике ЗППП / С.Л. Морс, К.М. Бек-Сагю, П.Л. Мардх // Заболевания, передаваемые половым путем. — 1998. — № 4. — С. 3–16.

7. Пунченко, О.Е. Серологические и иммунологические способы диагностики первичного и вторичного сифилиса : автореф. дис. ... канд. мед. наук / О.Е. Пунченко. — СПб., 2003. — 22 с.

8. Серологическая диагностика сифилиса: возможности повышения информативности / А.М. Иванов [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2004. — Т. LIII, специальный выпуск. — С. 126–127.

9. Чеботарев, В.В. Последствия эпидемии сифилиса в России и пути ее решения / В.В. Чеботарев, Н.В. Чеботарева // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. — 2010. — № 5. — С. 5–9.

10. Шепило, С.А. Эпидемиология нейросифилиса в Санкт-Петербурге / С.А. Шепило, К.И. Разнатовский, Н.Ю. Александров // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 8. — С. 184–189.

11. Эффективность иммуноблотинга при дифференциальной диагностике сифилиса у беременных / М.В. Сердюцкая [и др.] // Журнал инфектологии. — 2009. — Т. 1, № 2/3. — С. 43–47.

12. Antoni, J. Detection of antigenic determinants in the *Treponemapallidum* membrane protein TmpA using overlapping synthetic peptides / J. Antoni // J. Immunol. Meth. — 1996. — V. 189, № 1. — P.137–140.

13. Blanco, D.R. Surface antigens of the syphilis spirochete and potential as virulence determinants / D.R. Blanco, J.N. Miller, M.A. Lovett // Emerg. Infect. Dis. — 1997. — V. 3, № 1. — P. 11–20.

14. Centers for Disease Control and Prevention: Morbidity and Mortality Weekly Report. — 2011. — V. 69, № 5. — P. 133–137.

15. Dobson, S.R.M. Recognition of *Treponemapallidum* antigens by IgM and IgG antibodies in congenitally infected newborns and their mothers / S.R.M. Dobson, L.H. Taber, R.E. Baughn // The Journal of Infectious Diseases. — 1998. — № 157 (5). — P. 903–910.

16. Gerber, A. Recombinant *Treponemapallidum* antigens in syphilis serology / A. Gerber, S. Krell, J. Morenz // Immunobiology. — 1996–1997. — V. 196, № 5. — P. 535–549.

17. Hunter, M.G. Significance of isolated reactive treponemal chemiluminescence immunoassay results /

M.G. Hunter, P.W. Robertson, J. J. Post // *J. Infect. Dis.* – 2013. – № 207 (9). – P. 1416–1423.

18. Lewis, L.L. Evaluation of immunoglobulin M western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis / L.L. Lewis // *J. Clin. Microbiol.* – 1990. – V. 28, № 2. – P. 296–302.

19. Muller, F. Immunological and laboratory aspects of treponematoses / F. Muller // *Dermatol.* – 1984. – V. 170. – № 6. – P. 357–366.

20. Norris, S.J. Polypeptides of *Treponemapallidum*: progress toward understanding their structural, functional and immune roles / S.J. Norris // *Microbiol.rev.* – 1993. – V. 57, № 3. – P. 750–779.

21. Opsonic potential, protective capacity, and sequence conservation of the *Treponemapallidum* subspecies *pallidum* Tp92 / C.E. Cameron [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases.* – 2000. – № 181. – P. 1401–1413.

22. Radolf, J.D. Characterization of outer membranes isolated from *Treponema pallidum*, the syphilitic spirochete / J.D. Radolf, E.J. Robinson, K.W. Bourell // *Mol. Microbiol.* – 1995. – V. 63, № 11. – P. 4244–4252.

23. Response of *Treponemapallidum* particle agglutination test titers to treatment of syphilis / P.P. Bosshard [et al.] // *Clin.Infect.Dis.* – 2013. – № 56 (3). – P. 463–464.

24. Sena, A.C. Novel *Treponemapallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21<sup>st</sup> century / A.C. Sena, B.L. White, P.F. Sparling // *CID.* – 2010. – № 51. – P. 700–707.

25. Shennon, R. Immunological responses in late syphilis / R. Shennon, C.G. Copley, G. D. Morrison // *British Journal of Venereal Diseases.* – 1980. – V. 56, № 6. – P. 372–376.

26. Wicher, K. Humoral response in *Treponemapallidum*-infected guinea pigs: I. Antibody specificity / K. Wicher, A. Jakubowski, V. Wicher // *Clin. Exp.Immunol.* – 1987. – № 68. – P. 263–270.

27. Wieher, V. Pathogen-specific humoral response in *Treponemapallidum*-infected humans, rabbits, and guinea pigs / V. Wieher, J. Zabek, K. Wieher // *The Journal of Infectious Diseases.* – 1991. – № 163 (4). – P. 860–836.

#### Сведения об авторах

Пунченко Ольга Евгеньевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской микробиологии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Северо-Западного медицинского университета им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. Тел. +7-921-872-12-56, e-mail: Olga.punchenko@mail.ru

Ришук Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Северо-Западного медицинского университета им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. Тел. +7-911-232-85-63, e-mail: s.rishchuk@mail.ru

Поступила 25.02.2014 г.

Пунченко О.Е., Ришук С.В. Иммуноферментный анализ в диагностике сифилиса // *Профилактическая и клиническая медицина.* – 2014. – № 1 (50). – С.

UDC 616.972

© О.Е. Punchenko, S.V. Rishchuk, 2014

## IMMUNE-ENZYME ASSAY FOR SYPHILIS DIAGNOSIS (SCIENTIFIC REVIEW)

O.E. Punchenko, S.V. Rishchuk

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

State Educational Institution for Higher Professional Training «North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov» Ministry of Health of the Russian Federation. Russia, 191015, Saint-Petersburg, Kirochnaya str., 41. Tel. 8(812)303-50-00, e-mail: rectorat@spbmapo.ru

#### Abstract

Immune-enzyme assays for the detection of serum antibody are performed in a manner similar to immunoassays for antigen detection, except that the roles of antigen and antibody are reversed. Serology is the primary method used for the laboratory diagnosis of syphilis. Two major types of serologic tests exist: nontreponemal tests and treponemal tests. In immune-enzyme assay treponemal test is commonly used. Its sensitivity is up to 100%. A co-infection can result in false-negative serologic tests. Treponemal test titers remain high and usually do not drop in response to therapy as the nontreponemal test results do. Thus, treponemal tests are not useful in the following therapy or in detecting reinfection. Conclusion. Culture methods are not available and serology is the normal basis of diagnosis. Many laboratories use some form of ELISA test for antibody detection. Manufacturers produce kits for screening large number of samples and kits for confirming positive or negative screening results.

**Key words:** immune-enzyme assay, serologic tests, syphilis, *Treponema pallidum*

#### References

1. *Analiz zaboлеваemosti sifilisom v Leningradskoj oblasti i Sankt-Peterburge na sovremennom eh tape* / R.A. Agaev [i dr.] // *Zhurnal infektologii.* – 2011. – Т. 3, № 2. – С. 40–46.

2. Volina, E.G. Metody opredelenija osnovnykh parametrov immunnogo statusa makroorganizma i serodiagnostika infekcionnykh boleznej / E.G. Volina ; pod red. A.S. Labinskoi, E.G. Volinon. — M. : Izdatel'stvo BINOM, 2008. — Gl. 16. — S. 513–556.
3. *Dinamika i tendencii techenija skrytykh form sifilisa i razvitiya serorezistentnosti v Leningradskoj oblasti i Sankt-Peterburge na sovremennom ehtape* / R.A. Agaev [i dr.] // Zhurnal infektologii. — 2011. — T. 3, № 3. — S. 18–25.
4. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika: nacional'noe rukovodstvo: v 2 t.* / pod red. V.V. Dolgova, V.V. Men'shikova. — M. : GOEhTAR-Media, 2012. — T. 2. — S. 506, 514–516.
5. *Krasnosel'skikh, T.V.* / Patogenez i sovremennye osobennosti klinicheskoi kartiny priobretennogo sifilisa (chast' 1) / T.V. Krasnosel'skikh, E.V. Sokolovskij // Nepreryvnoe posleddiplomnoe obrazovanie. — 2010. — № 2. — S. 73–76.
6. *Mors, S.L.* Rekomendacii po laboratornoj diagnostike ZPPP / S.L. Mors, K.M. Bek-Sagiu, P.L. Mardkh // Zabolevanija peredavaemye polovym putem. — 1998. — № 4. — S. 3–16.
7. *Punchenko, O.E.* Serologicheskie i immunologicheskie sposoby diagnostiki pervichnogo i vtorignogo sifilisa : avtoref. dis. ... kand. med. nauk / O.E. Punchenko. — SPb., 2003. — 22 s.
8. *Serologicheskaja diagnostika sifilisa: vozmozhnosti povysheniya informativnosti* / A.M. Ivanov [i dr.] // Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej. — 2004. — T. LIII, special'nyj vypusk. — S. 126–127.
9. *Chebotaev, V.V.* Posledstviya ehpidemii sifilisa v Rossii i puti ee reshenija / V.V. Chebotaev, N.V. Chebotareva // Sovremennye problemy dermatovenerologii, immunologii i vrachebnoj kosmetologii. — 2010. — № 5. — S. 5–9.
10. *Shepilo, S.A.* Ehpidemiologija nejrosifilisa v Sankt-Peterburge / S.A. Shepilo, K.I. Raznatovskij, N.Ju. Aleksandrov // Fundamental'nye issledovanija. — 2012. — № 8. — S. 184–189.
11. *Ehffektivnost' immunoblotinga pri differencial'noj diagnostike sifilisa u beremennykh* / M.V. Serdjuckaja [i dr.] // Zhurnal infektologii. — 2009. — T. 1, № 2/3. — S. 43–47.
12. *Antoni, J.* Detection of antigenic determinants in the Treponemapallidum membrane protein TmpA using overlapping synthetic peptides / J. Antoni // J. Immunol. Meth. — 1996. — V. 189, № 1. — P.137–140.
13. *Blanco, D.R.* Surface antigens of the syphilis spirochete and potential as virulence determinants / D.R. Blanco, J.N. Miller, M.A. Lovett // Emerg. Infect. Dis. — 1997. — V. 3, № 1. — P. 11–20.
14. *Centers for Disease Control and Prevention: Morbidity and Mortality Weekly Report.* — 2011. — V. 69, № 5. — P. 133–137.
15. *Dobson, S.R.M.* Recognition of Treponemapallidum antigens by IgM and IgG antibodies in congenitally infected newborns and their mothers / S.R.M. Dobson, L.H. Taber, R.E. Baughn // The Journal of Infectious Diseases. — 1998. — № 157 (5). — P. 903–910.
16. *Gerber, A.* Recombinant Treponemapallidum antigens in syphilis serology / A. Gerber, S. Krell, J. Morenz // Immunobiology. — 1996–1997. — V. 196, № 5. — P. 535–549.
17. *Hunter, M.G.* Significance of isolated reactive treponemal chemiluminescence immunoassay results / M.G. Hunter, P.W. Robertson, J. J. Post // J. Infect. Dis. — 2013. — № 207 (9). — P. 1416–1423.
18. *Lewis, L.L.* Evaluation of immunoglobulin M western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis / L.L. Lewis // J. Clin. Microbiol. — 1990. — V. 28, № 2. — P. 296–302.
19. *Muller, F.* Immunological and laboratory aspects of treponematoses / F. Muller // Dermatol. — 1984. — V. 170. — № 6. — P. 357–366.
20. *Norris, S.J.* Polypeptides of Treponemapallidum: progress toward understanding their structural, functional and immune roles / S.J. Norris // Microbiol. rev. — 1993. — V. 57, № 3. — P. 750–779.
21. *Opsonic potential, protective capacity, and sequence conservation of the Treponemapallidum subspecies pallidum Tp92* / C.E. Cameron [et al.] // The Journal of Infectious Diseases. — 2000. — № 181. — P. 1401–1413.
22. *Radolf, J.D.* Characterization of outer membranes isolated from Treponema pallidum, the syphilitic spirochete / J.D. Radolf, E.J. Robinson, K.W. Bourell // Mol. Microbiol. — 1995. — V. 63, № 11. — P. 4244–4252.
23. *Response of Treponemapallidum particle agglutination test titers to treatment of syphilis* / P.P. Bosshard [et al.] // Clin. Infect. Dis. — 2013. — № 56 (3). — P. 463–464.
24. *Sena, A.C.* Novel Treponemapallidum serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century / A.C. Sena, B.L. White, P.F. Sparling // CID. — 2010. — № 51. — P. 700–707.
25. *Shannon, R.* Immunological responses in late syphilis / R. Shannon, C.G. Copley, G. D. Morrison // British Journal of Venereal Diseases. — 1980. — V. 56, № 6. — P. 372–376.
26. *Wicher, K.* Humoral response in Treponemapallidum-infected guinea pigs: I. Antibody specificity / K. Wicher, A. Jakubowski, V. Wicher // Clin. Exp. Immunol. — 1987. — № 68. — P. 263–270.
27. *Wicher, V.* Pathogen-specific humoral response in Treponemapallidum-infected humans, rabbits, and guinea pigs / V. Wicher, J. Zabek, K. Wicher // The Journal of Infectious Diseases. — 1991. — № 163 (4). — P. 860–836.

#### Authors

*Punchenko Olga Evgenevna* — Ph.D. (Medicine), Assistant Professor of the department of Microbiology of the State Educational Institution for Higher Professional Training «North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov» Ministry of Health of the Russian Federation. Russia, 191015, Saint-Petersburg, Kirochnaya str., 41. Tel. +7-921-872-12-56, e-mail: Olga.Punchenko@mail.ru

*Rishchuk Sergey Vladimirovich* — M.D., Professor, department of Obstetrics, Gynecology, Perinatology and Reproductology of the State Educational Institution for Higher Professional Training «North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov» of the Ministry of Health of the Russian Federation. Russia, 191015, Saint-Petersburg, Kirochnaya str., 41. Tel. +7-911-232-85-63, e-mail: s.rishchuk@mail.ru

*Punchenko O. E., Rishchuk S.V. Immune-enzyme assay for syphilis diagnosis (scientific review) // Preventive and clinical medicine. — 2014, № 1 (50). — P.*