

Влияние инфекционных заболеваний на обнаружение антител к бледной трепонеме

В. С. Кузнецова¹, Н. Н. Киселева¹, Д. А. Вошинкина¹, В. П. Мудров^{1,2}

¹ГБУЗ г. Москвы «Диагностический клинический центр № 1 Департамента здравоохранения Москвы»

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

РЕЗЮМЕ

Проблема распространения сифилиса приобретает актуальность в связи с быстрым ростом числа первично выявляемых случаев заболевания. При анализе и интерпретации полученных лабораторных данных всегда существует вероятность получения противоречивых результатов как ложноположительных, так и ложноотрицательных, не совпадающих с клинической картиной пациента. Поскольку на практике ложноположительные результаты серологических тестов на сифилис выявляются чаще, чем ложноотрицательные, особое значение придается выявлению и изучению причин их возникновения. На аналитическом этапе причиной может служить перекрестная реактивность тест-системы с различными «частицами» в анализируемых образцах ввиду особенностей ее конструирования и антигенного состава. Для данной работы использованы наборы реагентов Abbott GmbH, Mindray (метод ИХЛА), а также реагенты производства «Вектор-Бест» (метод ИФА и реакция преципитации). При проведении исследования обнаружено, что одной из возможных «частиц», приводящих к кросс-реактивности, могут быть антитела класса G к цитомегаловирусу.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сифилис, кросс-реактивность, CMV Ig G.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Influence of infectious diseases on detection of antibodies to *treponema pallidum*

V. S. Kuznetsova¹, N. N. Kiseleva¹, D. A. Voshchinkina¹, V. P. Mudrov^{1,2}

¹Diagnostic Clinical Centre No. 1, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

SUMMARY

The problem of the spread of syphilis is becoming acute due to the rapid increase in the number of initially detected cases of the disease. When analyzing and interpreting the obtained laboratory data, there is always the possibility of obtaining contradictory results, both false positive and false negative, which do not coincide with the clinical picture of the patient. Since in practice false positive results of serological tests for syphilis are detected more often than false negative ones, special importance is attached to the identification and study of the causes of their occurrence. At the analysis stage, the cause may be the cross-reactivity of the test system with various 'particles' in the analyzed samples, due to the peculiarities of its design and antigenic composition. For this work, sets of reagents Abbott GmbH (CMIA), Mindray (CLIA), as well as reagents produced by Vector-Best (ELISA) were used. During the study, it was found that one of the possible 'particles' leading to cross-reactivity of test systems may be IgG antibodies to cytomegalovirus.

KEYWORDS: syphilis, cross-reactivity, CMV Ig G.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Сифилис – инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*, *T. pallidum*), передающееся преимущественно половым путем, характеризующееся поражением кожи, слизистых оболочек, нервной системы, внутренних органов и опорно-двигательного аппарата и отличающееся стадийным, рецидивирующим, прогрессирующим течением. В связи с повсеместным распространением и тяжелыми последствиями, которые вызывает эта инфекция, а также участвовавшими случаями скрытого течения данного заболевания возрастает актуальность изучения и выявления сифилиса в рамках всеобщего скрининга населения.

Стратегия по увеличению охвата скрининга населения отражена в концепции Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) «Глобальная стратегия сектора здравоохранения по ВИЧ, вирусному гепатиту и инфекциям, передаваемым

половым путем, на 2022–2030 годы». На основе данного документа во всех странах – участниках ВОЗ, разрабатываются стратегии по снижению распространения заболеваемости сифилисом. В планах ВОЗ к 2030 году увеличить охват скрининга до 90% населения планеты и выйти на показатели регистрации числа новых случаев 0,71 млн человек [1].

В соответствии с ежегодным государственным докладом о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Москве в 2022 году зарегистрировано повышение заболеваемости сифилисом в 1,9 раза по сравнению с 2021-м. Всего в 2022 году зарегистрировано в Москве 10450 случаев заболевания данной инфекцией, показатель заболеваемости составил 82,50 на 100 тыс. человек (в 2021 году – 42,98 на 100 тыс.). Показатель заболеваемости сифилисом в Москве в 2022 году в 4,70 раза выше, чем в Российской Федерации (17,54 на 100 тыс. человек) (рис. 1) [2].

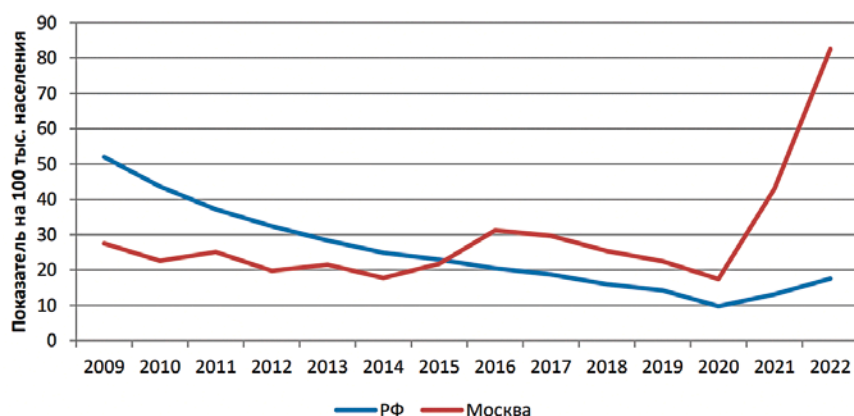


Рисунок 1. Многолетняя динамика заболеваемости сифилисом населения Москвы по сравнению с Российской Федерацией в 2009–2022 годах.

Для лабораторной диагностики сифилиса применяются прямые и непрямые методы. Прямые методы диагностики выявляют самого возбудителя или его генетический материал, что является абсолютным доказательством наличия заболевания.

Прямые методы используются для диагностики ранних форм заболевания (первичный и вторичный сифилис) с клиническими проявлениями (эрозивно-язвенные элементы), для подтверждения врожденного сифилиса (ткань пуповины, плаценты, органы плода, отделяемое слизистой оболочки носа, содержимое пузырей, отделяемое с поверхности папул).

Непрямые методы диагностики сифилиса – это тесты, выявляющие антитела к возбудителю сифилиса в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости, также используется термин «серологические лабораторные исследования» [3–6].

В настоящее время хорошо известно, что *T. pallidum* имеет сложный антигенный состав, наибольшую иммуногенность имеют четыре липопротеида наружной мембраны (Trp47, Trp17, Trp15, TrpA). В наборах реагентов в качестве антигена применяются рекомбинантные (в большинстве случаев) или синтетические пептиды.

Основными серологическими методами определения антител к бледной трепонеме являются нетрепонемные (НТТ) и трепонемные (ТТ) тесты.

В НТТ применяется антиген нетрепонемного происхождения (кардиолипн-холестерол-лецитиновый комплекс). Они выявляют антитела к липидам клеточной стенки *T. pallidum*.

В ТТ применяется антиген трепонемного происхождения. Основные ТТ, рекомендуемые к применению в России: ИФА – иммуноферментный анализ, ИХЛ – реакция иммунохемилюминесценции, РПГА – реакция пассивной гемагглютинации, РИФ – реакция иммунофлуоресценции, ИБ – иммуноблоттинг, ПБТ – простые быстрые тесты у постели больного, РИБТ, или РИТ, – реакция иммобилизации бледных трепонем.

Несмотря на многообразие высокочувствительных и высокоспецифичных тест-систем, в настоящее время не создано методов со 100%-ной чувствительностью и специфичностью. Существует вероятность получения ложноположительных результатов (ЛПР) при отсутствии данных анамнеза по данной инфекции [7–9]. Появление ЛПР может быть связано со многими факторами – низкой специфичностью серологических тестов, перекрестными реакциями, возникающими при других бактериальных и вирусных инфекциях, когда наблюдается поликлональная активация Т- и В-лимфоцитов и возникновением гипергаммаглобулинемии.

Антитела к *T. pallidum* часто перекрестно реагируют с другими патогенами, такими как *Helicobacter pylori*, *Borrelia*, *Rickettsia*, *Ehrlichia*, ВИЧ и вирусами герпеса. Перекрестные реакции в серологических тестах связаны с типом антигенов, используемых в тесте. Так, при заражении *Borrelia burgdorferi* у пациентов с подозрением на инфекцию ранний иммунный ответ против

белка флагеллина (р41) и белка OspC (р23–25) сопровождается повышением уровня IgM. В своей работе Ма и соавт. (1992) описали, что у больных сифилисом отмечен высокий процент положительных результатов IgM на антиген р41 (75%) [10].

Описаны два вида ЛПР – острые (ОЛПР) и хронические (ХЛПР). ОЛПР могут наблюдаться при беременности, после вакцинации, после недавно перенесенного инфаркта миокарда, при многих инфекционных заболеваниях, при дерматозах. Среди причин ХЛПР отмечают аутоиммунные заболевания, системные болезни соединительной ткани, онкологические заболевания, хроническую патологию печени и желчевыводящих путей, сердечно-сосудистую и эндокринную патологию, хронические заболевания легких, инъекционное потребление наркотиков, пожилой возраст и другие. ХЛПР могут являться преκлиническими проявлениями тяжелых заболеваний [11].

Отмечается, что спонтанная негатация ОЛПР происходит в течение 6 месяцев наблюдения, ХЛПР сохраняются длительное время, иногда пожизненно.

ЛПР могут выявляться любыми серологическими тестами на сифилис. Для ЛПР более характерны регистрация низких титров НТТ ($\leq 1 : 4$), отрицательные или слабopоложительные результаты ТТ, колебания значений тестов при их повторении в одной лаборатории, спонтанное (без антибиотикотерапии) снижение титров или негатация серореакций, отсутствие клинико-анамнестических показателей [12].

Для исключения аналитической ошибки проводятся исследования проб с использованием различных наборов реагентов.

Так, в работе китайских авторов (K. D. Wang *et al.*, 2016), проведенной для определения оптимальной процедуры скрининга на сифилис, было установлено, что показатели чувствительности и специфичности ИХЛ составили 100 и 99,8%. Уровень ЛПР методом ИХЛ составил 0,22%. В выводах авторы предложили использовать ИХЛ-метод в качестве скринингового теста на сифилис,

а тесты агглютинации искусственных частиц на антитела к *T. pallidum* (ТРПА) и быстрых плазменных реагинов (РПР) – для подтверждения результатов и их мониторинга [13].

Несовпадение результатов серологических реакций может наблюдаться ввиду разной аналитической чувствительности тестов, разной природы и состава входящих в них антигенов и соответственно определяемых антител. При одновременной постановке результаты исследований в разных реакциях могут не совпадать.

Цель работы: выявление потенциальной кросс-реактивности наборов реагентов на антитела к бледной трепонеме и антител класса G к цитомегаловирусу (CMV G).

Материалы и методы

Проведен скрининговый тест на определение суммарных антител к бледной трепонеме в период с 01.01.2023 по 29.05.2023. Для дальнейшего исследования были отобраны пробы, у которых из одного биоматериала наблюдались противоположные результаты, выполненные различными методами. Выборка составила 0,08 % из общего числа обследованных (100 из 123 606) или 3,98 % от количества положительных образцов (100 из 2512). Средний возраст пациентов составил 54,58 года (доверительный интервал [ДИ]: 51,83–57,33).

Во всех пробах было выполнено определение антигена вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу иммунодефицита человека (HIV), антител к вирусу гепатита С (HCV), антител класса G к *H. pylori*.

Проведен анализ проб пациентов на CMV G, в которых выявлено несоответствие результатов исследований суммарных антител к бледной трепонеме, полученных с использованием разных наборов реагентов. Анализ проводился на приборах Alinity i (Abbott GmbH), Architect i2000sr (Abbott GmbH), Mindray CL6000i (Mindray) (метод ИХЛА), а также Tecan infinite F50 (Tecan Austria GmbH), Dynex Charoite (Dynex Technologies) (реагенты производства «Вектор-Бест») (метод ИФА) и набором реагентов «Антикардиолипин-

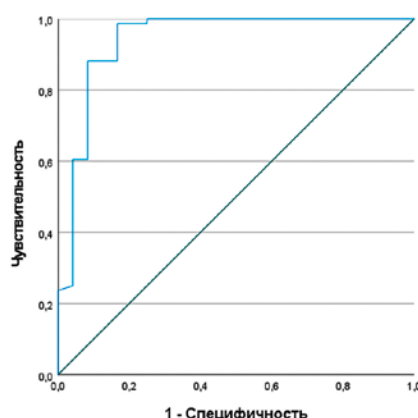


Рисунок 2. Результаты ROC-анализа для анализаторов Abbott.

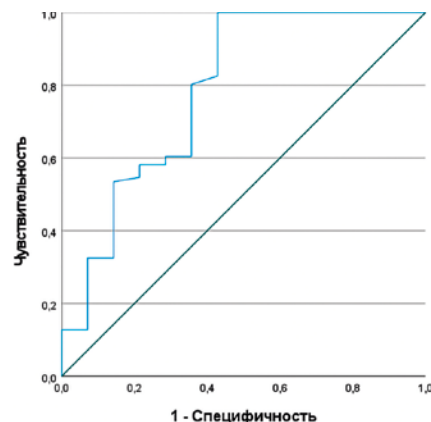


Рисунок 3. Результаты ROC-анализа для анализаторов Mindray.

РПР-БЕСТ» (далее РПР) (производства «Вектор-Бест») (реакция преципитации).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ SPSS Statistics (IBM, США), версия 27.0. При отсутствии нормального распределения данных использовали непараметрические критерии, в качестве критерия достоверности – статистический критерий Манна – Уитни для двух несвязанных групп и Краскелла – Уоллеса – для трех и более несвязанных групп. При анализе взаимосвязей внутри пары количественных или порядковых качественных признаков выполняли корреляционный анализ по методу Спирмана. Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Методом ROC-анализа определялась возможность кросс-реактивности теста при одновременном определении антител к различным инфекционным агентам.

Результаты и обсуждение

В соответствии с рекомендациями Европейского центра профилактики и контроля заболеваний (ECDC) за реактивным трепонемным скрининговым анализом (первичный скрининговый тест) следует второй – другой трепонемный анализ, который используется в качестве подтверждающего теста; эта процедура не сопровождается количественным нетрепонемным анализом [14].

В нашем случае в качестве первичного скринингового теста использовался метод ИХЛ. Получены первично положительные результаты. В качестве второго теста использовался набор реагентов, основанный на методе ИФА. Для всех отобранных проб получены отрицательные результаты.

Также было проведено дополнительное обследование проб аналогичным методом (ИХЛ) с использованием наборов реагентов другого производителя, и в 26 % было обнаружено несоответствие результатов. Из 100 проб 82 и 92 – первично положительные (Abbott и Mindray соответственно).

При определении вируса гепатита В (HBsAg), вируса иммунодефицита человека (HIV) были получены отрицательные результаты. При определении антител к вирусу гепатита С (HCV) – 98 % отрицательных результатов.

В ходе постановки были обнаружены антитела класса G к *H. pylori* у отдельных пациентов (62 %), но исследование не выявило достоверной корреляции ни с диагнозом пациентов, ни с другими исследуемыми биомаркерами.

При выполнении исследования на CMV G в 93 случае из 100 (93 %) получены положительные результаты. Медиана результата CMV G = 184,53 Ед/мл (ДИ: 169,12–199,93 Ед/мл; при норме < 6 Ед/мл).

Можно предположить, что высокий уровень антител к CMV снижает диагностическую специфичность наборов реагентов, использующих метод ИХЛ. Площадь, ограниченная ROC-кривой, составила для Abbott – 0,941 (0,873–1,000) (рис. 2), для Mindray – 0,785 (0,631–0,939) (рис. 3).

В исследованных пробах выявлена возможная ЛПР на антитела к бледной трепонеме, причиной которой могла явиться перекрестная реакция с CMV G при использовании наборов реагентов, основанных на методе ИХЛ.

Заключение

Лабораторная диагностика сифилиса остается преимущественно серологической. Для лабораторной диагностики сифилиса доступно несколько методов, но их полезность ограничена природой заболевания и присущими методам ограничениями. Исследования показали, что до 3% доноров с антителами к острой фазе сифилиса имеют отрицательный результат в НТТ. Это свидетельствует о том, что НТТ не идеальны для скрининга доноров крови. [15] Другие работы показали, что НТТ не нужен для диагностики сифилиса, но может быть рекомендован для определения серологической активности и эффекта лечения сифилиса [16].

Высокая чувствительность наборов реагентов, основанных на методе ИХЛ, а также автоматизация процесса и скорость выполнения позволяют использовать их в качестве скринингового теста. При получении первично положительных результатов требуется проведение дальнейших подтверждающих тестов для исключения ЛПР у пациентов другими методами диагностики. Использование алгоритма в серологической диагностике сифилиса, в котором для скрининга используются ТТ, а затем положительные результаты подтверждаются другим ТТ, может повысить диагностические возможности [17].

Серологические тесты, используемые в диагностике сифилиса, могут давать ЛПР у пациентов с активными вирусными инфекциями, что может быть связано с перекрестно реагирующими антителами, появляющимися при поликлональных реакциях активации Т-, В-лимфоцитов, активированных вирусными суперантигенами.

Следует учитывать, что важным аспектом в диагностике сифилиса является использование специфических трепонемных антигенов. Это может свести к минимуму перекрестную реактивность, особенно у пациентов с активной вирусной инфекцией.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что проблемы в серологической диагностике сифилиса существуют. Это обусловлено многообразием применяемых тестов, различиями в их аналитической и клинической чувствительности и специфичности, комплексностью диагностики и другими причинами.

Сведения об авторах

Кузнецова Вероника Сергеевна, врач клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: verkuzne@yandex.ru. ORCID: 0009-0005-2872-4101
Киселева Надежда Николаевна, врач клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: kisenadn.dkc1@gmail.com. ORCID: 0009-0003-1386-8378
Вощинкина Диана Александровна, зав. клинико-диагностической лабораторией¹. E-mail: 0212.kdl@gmail.com. ORCID: 0009-0003-1967-9973
Мудров Валерий Павлович, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики¹, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии². E-mail: vpmudrov@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1129-8335

¹ГБУЗ г. Москвы «Диагностический клинический центр № 1 Департамента здравоохранения Москвы»

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

Автор для переписки: Кузнецова Вероника Сергеевна. E-mail: verkuzne@yandex.ru

Для цитирования: Кузнецова В.С., Киселева Н.Н., Вощинкина Д.А., Мудров В.П. Влияние инфекционных заболеваний на обнаружение антител к бледной трепонеме. Медицинский алфавит. 2023; (23): 53–56. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2023-23-53-56>

Список литературы / References

1. Глобальные стратегии сектора здравоохранения по ВИЧ, вирусному гепатиту и инфекциям, передаваемым половым путем, на 2022–2030 гг. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2022 г. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022–2030. Geneva: World Health Organization; 2022. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Государственный доклад о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в городе Москве в 2022 году. Часть вторая. https://77.rosotrebznadzor.ru/images/part_2.pdf
3. State report on the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the city of Moscow in 2022. Part two. https://77.rosotrebznadzor.ru/images/part_2.pdf
4. Красносельских Т.В., Соколовский Е.В. Современные стандарты диагностики сифилиса: сравнение российских и зарубежных клинических рекомендаций (сообщение II). Вестник дерматологии и венерологии. 2015. Т. 91. № 2. С. 11–22. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2015-91-2-11-22>
5. Krasnoselskikh T. V., Sokolovskiy E. V. Current standards for diagnosis of syphilis: Comparing the Russian and foreign guidelines (part II) Vestnik dermatologii i venerologii. 2015. Vol. 91. No. 2. P. 11–22. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2015-91-2-11-22>
6. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2015; MMWR Recomm Rep 2015; 64 (No. RR-3): 1–138.
7. Janier M., Hegyi V., Dupin N. et al. 2014 European guideline on the management of syphilis. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014; 28 (12): 1581–1593. <https://doi.org/10.1111/jdv.12734>
8. Ballard R., Hook E. W. III. Syphilis. In: Nemo M., Ballard R., Ison C., Lewis D., Ndowa F., Peeling R., eds. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland, 2013: 107–129.
9. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных сифилисом. М., 2015. 44 с. http://www.cnikvi.ru/docs/clinic_recs/infektsii-peredavaemye-pоловым-путем
10. Federal guidelines for the management of patients with syphilis. Moscow, 2015. 44 http://www.cnikvi.ru/docs/clinic_recs/infektsii-peredavaemye-pоловым-путем
11. Приказ от 21 декабря 2016 года № 1023 «О совершенствовании мероприятий по раннему выявлению сифилиса у населения города Москвы». Order dated December 21, 2016 No. 1023 'On improving measures for the early detection of syphilis among the population of the city of Moscow'.
12. Обрядина А.П., Чепурченко Н.В. Ложноположительные результаты серологических исследований на сифилис https://npods.ru/data/pages/science/files/zhurnal_Rzh18_na_sayt.pdf
13. Obryadina A. P., Chepurchenko N. V. False-positive syphilis serology results. https://npods.ru/data/pages/science/files/zhurnal_Rzh18_na_sayt.pdf
14. Ma B., Christen B., Leung D., Vigo-Pelfrey C. Serodiagnosis of Lyme borreliosis by Western immunoblot: Reactivity of various significant antibodies against Borrelia burgdorferi. J. Clin. Microbiol. 1992; 30: 370–376. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.2.370-376.1992>
15. Клинические рекомендации по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями. Российское общество дерматовенерологов и косметологов. М., Деловой экспресс, 2012; 34–68
16. Clinical guidelines for the management of patients with sexually transmitted infections and urogenital infections. Russian Society of Dermatovenereologists and Cosmetologists. M., Business Express, 2012; 34–68.
17. Дмитриев Г.А., Фриго Н.В. Сифилис. Дифференциальный клинико-лабораторный диагноз. М.: Медицина, 2004. 363 с.
18. Dmitriev G. A., Frigo N. V. Syphilis: Differential clinical laboratory diagnosis. Moscow: Meditsinskaya kniga; 2004. 363.
19. Wang K. D., Xu D. J., Su J. R. Preferable procedure for the screening of syphilis in clinical laboratories in China. Infect Dis (Lond). 2016; 48 (1): 26–31. <https://doi.org/10.3109/23744235.2015.1044465>
20. French P., Gomberg M., Janier M., Schmidt B., van Voorst Vader P., Young H. IUSTI: 2008 European guidelines on the management of syphilis. Int J STD AIDS. 2009; vol. 20 (pg. 300–9) <https://doi.org/10.1258/ijisa.2008.008510>
21. Attie A., de Almeida-Neto C., Wilkin S. S. et al. /Detection and analysis of blood donors sero-positive for syphilis. Transfus Med. 2021 Apr; 31 (2): 121–128. <https://doi.org/10.1111/tme.12761>
22. Wojciechowska-Kosko I., Kwiatkowski P., Sienkiewicz M. et al. Cross-Reactive Results in Serological Tests for Borreliosis in Patients with Active Viral Infections Pathogens. 2022 Feb; 11 (2): 203. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020203>
23. Sonmez T., Demir T., Uzunmehmetoglu H., Maden S., Kilic. Serological Diagnosis of Syphilis: Preliminary Study Searching for an Algorithm in Turkey. Acta Dermatovenereol Croat. 2018 Jun; 26 (2): 146–152. PMID: 29989871.

Статья поступила / Received 21.08.23
Получена после рецензирования / Revised 30.08.23
Принята в печать / Accepted 06.09.23

About authors

Kuznetsova Veronika S., physician at clinical laboratory diagnostics¹. E-mail: verkuzne@yandex.ru. ORCID: 0009-0005-2872-4101
Kiseleva Nadezhda N., physician at clinical laboratory diagnostics¹. E-mail: kisenadn.dkc1@gmail.com. ORCID: 0009-0003-1386-8378
Voshchinskina Diana A., head of clinical diagnostic laboratory¹. E-mail: 0212.kdl@gmail.com. ORCID: 0009-0003-1967-9973
Mudrov Valery P., PhD Med, physician at clinical laboratory diagnostics¹, assistant at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course of laboratory immunology². E-mail: vpmudrov@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1129-8335

¹Diagnostic Clinical Centre No. 1, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Corresponding author: Kuznetsova Veronika S. E-mail: verkuzne@yandex.ru

For citation: Kuznetsova V. S., Kiseleva N. N., Voshchinskina D. A., Mudrov V. P. Influence of infectious diseases on detection of antibodies to treponema pallidum. Medical alphabet. 2023; (23): 53–56. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2023-23-53-56>

