

Т.Ю. Трохимчук¹, Т.В. Грицан², О.А. Зверева³, Н.А. Дмитриева¹,
Л.Н. Мойса¹, Ю.И. Горлов¹, Л.А. Ганова⁴

¹ЧАО «НПК «Диапроф-Мед», Киев

²Областной кожно-венерологический диспансер, Николаев

³Областной кожно-венерологический диспансер, Запорожье

⁴Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев

Иммуноферментная тест-система для дифференцированного определения антител к антигенам возбудителя сифилиса

Цель работы — исследование диагностических возможностей иммуноферментной тест-системы DIA®-Trep-different (ЧАО «НПК «Диапроф-Мед», Киев), предназначенной для дифференцированного определения антител к наиболее иммуногенным антигенам *T. pallidum*, по сравнению с общепринятыми лабораторными методами и иммуноблоттингом.

Материалы и методы. Способность тест-системы DIA®-Trep-different выявлять антитела к *T. pallidum* проверена на панели сывороток/плазмы крови PSS201 (BBI), состоящей из 23 положительных на сифилис образцов и 2 отрицательных, а также на 154 сыворотках крови больных сифилисом разных стадий заболевания. Диагностические возможности тест-системы изучены в сравнительных исследованиях с РВ, РПГА РМП. При дифференцированном определении антител к антигенам *T. pallidum* в качестве тест-системы сравнения использован линейный иммуноблоттинг «Лайн-Блот Сифилис» (ЗАО «ЭКОлаб»).

Результаты и обсуждение. Тест-система DIA®-Trep-different все 23 сыворотки панели PSS201, содержащие антитела к *T. pallidum*, определила как положительные. В 20 образцах обнаружены антитела к Тр15, Тр17, Тр41 Тр47, в 1 — к Тр15, Тр17, Тр41, в 2 — к Тр15, Тр17. При исследовании сывороток больных сифилисом тест-система DIA®-Trep-different диагностировала заболевание на всех стадиях развития патологического процесса, в том числе раннюю и скрытую формы инфекции, тогда как в некоторых образцах РВ и РМП не выявляли специфических антител. Способность иммуноферментной тест-системы определять антитела к антигенам возбудителя была сопоставима с иммуноблоттингом. Однако тест-система позволяла исключить субъективный фактор при учете результатов анализа, поскольку он проводится в автоматическом режиме.

Выводы. Иммуноферментная тест-система DIA®-Trep-different по способности выявлять антитела к *T. pallidum* не уступает общепринятым методам серодиагностики РВ, РПГА, РМП и является более информативной, поскольку определяет антитела к отдельным антигенам возбудителя. Тест-система DIA®-Trep-different по способности дифференцированного определения специфических антител не уступает иммуноблоттингу «Лайн-Блот Сифилис» и позволяет проводить учет результатов в автоматическом режиме, упрощая и сокращая по времени диагностическую процедуру.

Ключевые слова

Диагностика сифилиса, иммуноферментный анализ, дифференцированное определение антител к *T. pallidum*.

Сифилис — хроническое инфекционное заболевание человека, вызываемое бактерией *Treponema pallidum*. По данным ВОЗ, в мире ежегодно сифилисом заболевает около 12 млн человек [1]. В последние годы возросло количество скрытых и латентных форм сифилиса [2]. В настоящее время в Украине складываются условия, при которых повышается вероятность распространения различных социально значимых ин-

фекций, в том числе сифилиса [3]. В связи с этим особую актуальность приобретают методы ранней и эффективной диагностики этих инфекций, которые позволяют проводить массовое обследование (скрининг) населения и, что важно, подтверждение позитивных результатов скрининга.

При диагностике сифилиса обычно используют серологические методы, позволяющие

обнаружить специфические антитела на всех стадиях заболевания. В клинико-лабораторной практике при обследовании пациентов на сифилис используют нетрепонемные и трепонемные тесты. При первичных массовых исследованиях из нетрепонемных тестов обычно применяют реакцию Вассермана (РВ) и реакцию микропреципитации (РМП), для которых используют кардиолипиновый антиген, а из трепонемных тестов — реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА) и иммуноферментный анализ (ИФА). Среди перечисленных методов наиболее распространены ИФА. Использование рекомбинантных белков позволило не только достичь высокой чувствительности этого метода, но и избежать неспецифических реакций. Кроме этого, ИФА недорогой и прост в постановке, а учет результатов автоматический. При изготовлении иммуноферментных тест-систем обычно используют несколько наиболее высокоспецифичных и иммуногенных рекомбинантных аналогов природных антигенов, относящихся к липопротеинам — Тр15, Тр17, Тр47 Тр41 [8]. Общим для них является локализация на мембране наружной клеточной стенки и высокое содержание в клетке возбудителя, что определяет их раннее распознавание в качестве чужеродных соединений макрофагами организма хозяина [7]. При первичном обследовании на сифилис определяют суммарные специфические антитела одновременно к нескольким антигенам возбудителя [4]. Достоверность результатов скринингового исследования на сифилис подтверждают определением антител к отдельным антигенам *T. pallidum*, которое позволяет установить стадию заболевания, активность течения инфекционного процесса и эффективность лечения [6, 8]. Дифференцированное определение антител к разным антигенам *T. pallidum* проводят методом линейного иммуноблоттинга (Western blot), в котором используются рекомбинантные антигены, дискретно фиксированные в виде параллельных линий на разных участках полоски из нейтрального волокнистого материала [5]. Недостатком метода иммуноблоттинга является его низкая производительность (достаточно большая трудоемкость и длительность) и визуальный учет результатов. Все это ограничивает его использование для проведения подтверждающих исследований большого количества образцов. Более перспективным для таких анализов является альтернативная иммуноблоттингу иммуноферментная тест-система, которая позволяет дифференцировано определять антитела к отдельным антигенам *T. pallidum*. ЧАО «НПК «Диапроф-Мед» в 2014–2015 гг. разработана тест-

система DIA®-Trep-different для отдельного определения антител к четырем основным белкам-антигенам *T. pallidum* (Тр15, Тр17, Тр47 Тр41) методом ИФА.

Цель работы — исследование диагностических характеристик иммуноферментной тест-системы DIA®-Trep-different и их сравнение с общепринятыми серологическими тестами и иммуноблоттингом, используемыми при обследовании на сифилис.

Материалы и методы

Исследуемые образцы сыворотки и плазмы крови

В работе использована коммерческая панель сывороток/плазмы крови Syphilis Mixed Titer Performance Panel (PSS201) производства ВВІ (США), состоящая из 23 положительных на сифилис образцов и 2 отрицательных. Согласно паспортным данным, все образцы панели предварительно исследованы в тесте быстрых плазменных реактивов (RPR — rapid plasma reagins), а также иммуноферментных тест-системах CAPTIA-Syphilis-M и CAPTIA-Syphilis-G (Centocor Inc.), выявляющих соответственно IgM и IgG к *T. pallidum*.

Использованы 154 сыворотки крови из кожного-венерологических диспансеров различных регионов Украины. Диагноз на сифилис у пациентов подтверждали клиническими проявлениями заболевания и результатами серологического обследования в реакциях РВ, РМП, РПГА, ИФА и иммуноблоттинге.

Диагностические тест-системы

Тест-система DIA®-Trep-different (ЧАО «НПК «Диапроф-Мед», Киев) разработана в варианте твердофазного непрямого ИФА. Стрипы иммуносорбента отдельно сенсibilизированы рекомбинантными белками — аналогами антигенов *T. pallidum* Тр15, Тр17, Тр41, Тр47. Иммунокомплексы, образованные этими белками и соответствующими специфическими антителами из исследуемых сывороток, выявляются пероксидазным конъюгатом на основе моноклональных антител к IgG человека. В качестве проявителя реакции используется раствор однокомпонентного ТМБ (тетраметилбензидин), включающего пероксид водорода в качестве субстрата для пероксидазы конъюгата.

Время проведения реакции составляет 2 ч. Тест-система адаптирована как для стандартного оборудования для ИФА, так и для автоматических анализаторов открытого типа. Учет результатов реакции автоматический. Согласно

инструкции к тест-системе, результат анализа исследуемой сыворотки/плазмы считается положительным при наличии антител к двум антигенам *T. pallidum*. При выявлении антител только к одному антигену *T. pallidum* результат считается неопределенным. В этом случае пациенты должны обследоваться повторно через 3–4 нед, поскольку подобный результат может быть в период «сероконверсионного окна» при первичной инфекции.

В качестве тест-системы сравнения для определения антител к разным антигенам *T. pallidum* использован линейный иммуноблоттинг «Лайн-Блот Сифилис» производства ЗАО «ЭКОлаб» (Российская Федерация). Согласно инструкции по применению набора, результат анализа исследуемой сыворотки считается положительным при двух полосах с интенсивностью окрашивания не менее 0,5+, что указывает на наличие антител к соответствующему антигену *T. pallidum*.

В сравнительных исследованиях и для характеристики клинического материала использованы коммерческие скрининговые иммуноферментные тест-системы DIA®-Trep, DIA®-SYPH (ЧАО «НПК «Диапроф-Мед»), Vitrotest Anti-Treponema (НПК «Vitrotest»).

Работа проведена на базе ЧАО «НПК «Диапроф-Мед», областных кожно-венерологических диспансеров гг. Николаева и Запорожья.

Результаты и обсуждение

Диагностические характеристики разработанной тест-системы DIA®-Trep-different определялись тестированием коммерческой панели сывороток/плазмы PSS201 (табл. 1). В предварительных исследованиях все образцы панели анализировались в иммуноферментных тест-системах DIA®-Trep и DIA®-SYPH (ЧАО «НПК «Диапроф-Мед»), предназначенных для скрининговых исследований на сифилис. Тест-система DIA®-Trep сконструирована в формате непрямого ИФА и определяет IgG к *T. pallidum*, а «сэндвич»-вариант диагностикума DIA®-SYPH позволяет определять суммарные специфические антитела (IgM, IgG, IgA). При анализе в иммуноферментных тест-системах DIA®-Trep и DIA®-SYPH во всех образцах панели PSS201, кроме № 5 и 15 (отрицательные образцы панели), выявлены специфические антитела к *T. pallidum*. Тест-система DIA®-Trep-different определила положительными те же сыворотки, что и скрининговые диагностикумы. Антитела к 4 антигенам *T. pallidum* (Tr15, Tr17, Tr41, Tr47) обнаружены в образцах № 1–3, 6–8, 10–13, 16–25, к 3 антигенам (Tr15, Tr17, Tr41) — в сыворотке № 4, к 2 антигенам (Tr15, Tr17) — в образцах № 9 и 14.

Диагностические характеристики тест-системы DIA®-Trep-different определены при исследовании 89 сывороток больных сифилисом на разных стадиях заболевания, предоставленных городскими и областными кожно-венерологическими диспансерами различных регионов Украины (табл. 2). Все сыворотки предварительно подтверждены общепринятыми лабораторными методами и в тест-системе DIA®-Trep. 61 человек имел латентную форму инфекции, из них у 12 больных заболевание протекало без клинических симптомов с положительными серологическими реакциями, у 21 пациента была ранняя стадия заболевания, у 7 — поздняя, у 21 — диагностирован сифилис с неустановленным сроком давности. Вторичный сифилис был у 27 больных, из которых в 1 случае диагностирован свежий вторичный сифилис, у остальных заболевание протекало с периодическими рецидивами, 1 больной имел нейросифилис.

При исследовании в тест-системе DIA®-Trep-different в сыворотке крови 2 больных, у которых сифилис протекал без клинических симптомов с положительными серологическими реакциями, и 1 пациента с ранним скрытым сифилисом обнаружены антитела к трем белкам *T. pallidum* — Tr15, Tr17, Tr47 (3,37 %). У одного пациента с вторичным рецидивирующим сифилисом выявлены антитела к двум антигенам — Tr15 и Tr17 (1,1 %). Специфические антитела только к одному белку Tr17 обнаружены у 2 больных (2,2 %): у одного был вторичный рецидивирующий сифилис, у другого — латентная форма заболевания с неопределенным сроком давности. У остальных больных (93,2 %) диагностированы антитела к четырем антигенам — Tr15, Tr17, Tr41, Tr47. Полученные данные по составу антител к отдельным антигенам *T. pallidum* показали, что в большинстве случаев вторичного сифилиса и латентной формы заболевания персистируют в организме антитела к 4 антигенам возбудителя — Tr15, Tr17, Tr41, Tr47. В ходе развития инфекционного процесса при вторичном сифилисе уменьшение спектра специфических антител до 2 или 1 в результате снижения иммунитета может провоцировать рецидивы заболевания. Однако нельзя исключить, что подобный результат анализа возможен и у больных, прошедших курс лечения, в результате которого уменьшается обсемененность организма возбудителем и наблюдается постепенное исчезновение нейтрализующих *T. pallidum* специфических антител.

В областном кожно-венерологическом диспансере г. Николаева проведены сравнительные

Таблиця 1. Результати тестирования панели PSS201 (BBI, USA) в тест-системе DIA®-Trep-different

№ образца панели	Тест-системы							
	CAPTIA-Syphilis-M*	CAPTIA-Syphilis-G*	DIA®-Trep	DIA®-SYPH	DIA®-Trep-different			
					Антитела к антигенам			
					Тр15	Тр17	Тр41	Тр47
Результат анализа (ОП/cut off)**								
PSS201–01	4,1	1,7	9,8	12,7	12,6	11,3	8,4	9,6
PSS201–02	1,4	2,5	8,8	13,4	10,5	12,6	7,5	7,7
PSS201–03	0,3	2,2	11,1	19,9	24,9	25,9	26,9	12,2
PSS201–04	0,4	1,4	10,9	19,8	24,2	26,5	2,1	0,5
PSS201–05	0,2	0,4	0,5	0,3	0,1	0,1	0,01	0,1
PSS201–06	3,0	1,9	10,8	12,7	10,5	14,1	11,3	9,8
PSS201–07	1,3	1,7	8,6	9,5	10,2	14,3	7,5	7,9
PSS201–08	0,8	2,5	11,6	21,3	26,8	30,5	26,4	22,6
PSS201–09	0,5	2,1	10,2	23	11,2	26,2	0,1	0,1
PSS201–10	0,7	2,7	12,2	20,9	27,1	26,3	24,0	28,1
PSS201–11	1,5	3,0	12,1	22,1	28,7	30,8	26,8	28,7
PSS201–12	0,5	2,0	8,9	21,4	23,0	27,7	2,0	1,2
PSS201–13	0,6	2,3	10,3	20,7	26,5	29,6	28,3	26,2
PSS201–14	0,2	1,7	10,4	20,9	26,9	2,8	0,3	0,2
PSS201–15	0,2	0,2	0,4	0,3	0,8	0,3	0,1	0,1
PSS201–16	1,0	2,6	11,4	14,5	11,4	16,4	19,7	26,5
PSS201–17	3,6	2,4	12,3	20,4	14,6	25,6	24,5	27,9
PSS201–18	0,5	3,2	12,6	21,6	25,9	25,4	26,9	25,1
PSS201–19	0,4	2,3	11,3	20,3	26,7	27,1	27,1	24,6
PSS201–20	0,5	2,6	10,3	21,2	27,3	28,7	25,0	8,4
PSS201–21	2,7	1,9	11,6	20,1	25,8	23,6	22,5	21,4
PSS201–22	0,3	2,0	9,6	20,3	29,6	27,7	6,1	3,8
PSS201–23	0,3	2,5	11,7	20,6	26,8	31,7	27,3	24,9
PSS201–24	0,6	3,0	11,5	21,3	24,8	29,6	26,9	27,3
PSS201–25	3,3	1,9	10,4	23,8	26,4	26,8	25,5	23,2

Примечание. *Результаты представлены из паспортных данных на панель; ** при соотношении ОП/cut off $\geq 1,0$ результат положительный, при ОП/cut off $< 1,0$ — результат отрицательный.

исследования сывороток 15 пациентов в тест-системе DIA®-Trep-different, РВ и РМП (табл. 3). При исследовании 7 сывороток пациентов, проходивших профилактическое обследование, 3 сыворотки определены отрицательными во всех трех тестах. Из 2 сывороток, слабоположительных только в РВ, в одном

образце тест-система DIA®-Trep-different не выявила антител к *T. pallidum*. В другой сыворотке пациента, имеющего половой контакт с больным сифилисом, в ИФА обнаружено 4 антигена — Тр15, Тр17, Тр41, Тр47. У пациента, у которого сыворотка крови в РМП была положительной в титре 1 : 2, тест-система

Таблиця 2. Результати дослідження сывороток больных на різних стадіях захворювання сифілісом в тест-системі DIA®-Trep-different

Диагноз больного	Кол-во образцов	DIA®-Trep	Тест-системы			
			DIA®-Trep-different			
			Антитела к антигенам			
			Тр15	Тр17	Тр41	Тр47
Результат ИФА						
<i>L.I seropositiva</i>	10	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	-	+
<i>L. latens praecox</i>	20	+	+	+	+	+
	1	+	+	+	-	+
<i>L. latens tarda</i>	7	+	+	+	+	+
<i>L. latens ignorata</i>	20	+	+	+	+	+
	1	+	-	+	-	-
	24	+	+	+	+	+
<i>L.II recidiva</i>	1	+	-	+	-	-
	1	+	+	+	-	-
<i>L.II recens</i>	1	+	+	+	+	+
<i>Neurosyphilis</i>	1	+	+	+	+	+

Таблиця 3. Результати дослідження сывороток пациентов областного кожвендиспансера г. Николаева в тест-системі DIA®-Trep-different

№ образцов	Диагноз пациента	РВ	РМП	Тесты			
				DIA®-Trep-different			
				Антитела к антигенам			
				Тр15	Тр17	Тр41	Тр47
ОП/cut off*							
1	<i>L. latens praecox.</i>	Слабоположит.	Нет данных	22,8	21,5	21,9	20,8
2	Обследов. (полов. контакт)	Слабоположит.	Нет данных	23,5	25,0	22,7	21,9
3	<i>L. latens praecox.</i>	4+	Нет данных	21,7	22,1	24,8	21,1
4	Проф. лечение сиф.	Отриц.	Отриц.	0,2	0,2	0,04	0,1
5	<i>L. latens tarda</i>	Отриц.	Нет данных	22,3	25,0	0,1	0,1
6	Обследов. беремен. 33—34 нед.	Отриц.	Отриц.	0,2	0,2	0,1	0,1
7	Обследов.	Отриц.	Отриц.	0,1	0,1	0,1	0,1
8	Обследов.	Отриц.	Отриц.	0,1	0,1	0,1	0,1
9	Обследов.	Отриц.	1 : 2	3,2	21,9	0,5	0,2
10	<i>L. latens tarda</i>	1 : 10	1 : 2	21,6	21,4	23,2	24,0
11	Обследов.	Слабоположит.	Отриц.	0,2	0,2	0,1	0,1
12	Обследов. (полов. контакт)	Отриц.	Отриц.	0,2	0,1	0,2	0,1
13	<i>L. lat. praecox.</i>	Отриц.	Слабополож.	20,3	21,4	20,8	18,9
14	<i>L. I. primaria</i> (микроскопия положительная)	Отриц.	Отриц.	0,3	4,2	0,1	0,1
15	<i>L. latens tarda</i>	Отриц.	Сомнит.	22,8	21,5	22,3	21,3

Примечание. *При соотношении ОП/cut off $\geq 1,0$ результат положительный; при ОП/cut off $< 1,0$ — результат отрицательный.

DIA®-Trep-different обнаружила антитела к 2 антигенам — Tr15, Tr17. Аналогичный результат получен также при анализе сыворотки больного поздним скрытым сифилисом, у которого результаты анализов в РВ и РМП отрицательные. У пациента с клинической симптоматикой первичного сифилиса, подтвержденного микроскопическим исследованием, но отрицательно в РВ и РМП, тест-система «DIA®-Trep-different» выявила антитела только к одному наиболее иммуногенному антигену Tr17, что не исключает начальную стадию инфекционного процесса после первичного заражения сифилисом. Результаты исследований показали, что тест-система DIA®-Trep-different выявляет специфические антитела на всех стадиях развития заболевания с более высокой чувствительностью, чем РВ и РМП.

В Запорожском областном кожно-венерологическом диспансере проведено серологическое обследование 33 пациентов с использованием иммуноферментной тест-системы DIA®-Trep-different в сравнительных исследованиях с РПГА, РМП и иммуноферментной тест-системой Vitrotest Anti-Treponema, предназначенной для скрининговых анализов (табл. 4). Все сыворотки, положительные в тест-системе Vitrotest Anti-Treponema, определены положительными и тест-системой DIA®-Trep-different. Из 5 образцов, отрицательных в иммуноферментных тест-системах, 3 были также отрицательными в РПГА и РМП, 1 образец был положительным в РПГА и РМП, 1 — только в РМП. Следует отметить, что из этих пациентов 4 человека проходили профилактическое обследование, а 1 больной прошел курс лечения позднего латентного сифилиса. В 18 сыворотках тест-система DIA®-Trep-different выявила антитела к 4 антигенам — Tr15, Tr17, Tr41, Tr47, из них 16 были положительными в РПГА и РМП, а 2 — только в РПГА. Из них у 3 пациентов был врожденный сифилис, у 2 — вторичный рецидивирующий сифилис, у 2 — ранний скрытый сифилис, у 5 — поздний скрытый сифилис, 2 пациента проходили сероконтроль после лечения и 4 человека — профилактическое обследование. В 6 сыворотках тест-система DIA®-Trep-different определила антитела только к 2 антигенам — Tr15 и Tr17. При этом 2 образца получены от больных с диагнозом скрытого первичного и позднего сифилиса, подтвержденных в РПГА и РМП. 3 сыворотки были положительными только в РПГА: 1 — от больного латентным сифилисом с неопределенным сроком давности, 2 — от пациентов, проходивших профилактическое обследование.

Одна сыворотка больного гепатитом С была положительной в РПГА и РМП. Сравнительные исследования тест-системы DIA®-Trep-different с РПГА и РМП, а также иммуноферментной тест-системой Vitrotest Anti-Treponema, предназначенной для скрининговых анализов, показали, что DIA®-Trep-different является более информативной, поскольку определяет антитела к отдельным антигенам возбудителя, что позволяет установить активность и стадию инфекционного процесса.

В табл. 5 представлены сравнительные исследования 17 сывороток больных сифилисом с различной формой инфекции в тест-системе DIA®-Trep-different и иммуноблоттинге «Лайн-Блот Сифилис». Из этих образцов больных: 6 — первичным серопозитивным сифилисом, 4 — вторичным рецидивирующим сифилисом, 6 — латентной формой сифилиса (3 — ранняя стадия, 4 — неопределенный срок). При анализе в тест-системе DIA®-Trep-different сыворотки всех пациентов определены как положительные. Коммерческий иммуноблоттинг не выявил специфических антител в сыворотке № 795 от больного вторичным рецидивирующим сифилисом, в котором иммуноферментная тест-система DIA®-Trep-different обнаружила антитела к трем антигенам — Tr15, Tr17, Tr47. В 7 образцах оба теста выявили антитела к одинаковым антигенам *T. pallidum*. Из 5 сывороток (№ 954, 984, 813, 703, 390), в которых тест-система DIA®-Trep-different выявила антитела к 3 антигенам (Tr15, Tr17, Tr47), иммуноблоттинг определил антитела дополнительно к Tr41. Однако следует отметить, что при анализе этих сывороток в иммуноблоттинге интенсивность реакции с некоторыми антигенами была слабой (0,5+): в образце № 813 — с Tr15, Tr17, Tr41, в пробе № 703 — с Tr15 и Tr41, в сыворотке № 390 — с Tr15. В 3 образцах (№ 956, 981, 38), в которых иммуноферментная тест-система обнаружила антитела к 2 антигенам (Tr15 и Tr17), в иммуноблоттинге при анализе образцов № 956 и 38 была слабая реакция (0,5+) на антитела к Tr15, Tr41, Tr47, а при исследовании сыворотки № 981 — на антитела к Tr47. В пробе № 471 тест-система «DIA®-Trep-different» выявила антитела к Tr17 и Tr47, в иммуноблоттинге была слабая реакция (0,5+) только на антитела к Tr15. Исследования показали, что тест-система DIA®-Trep-different по диагностическим характеристикам не уступает иммуноблоттингу, более удобная в использовании и позволяет исключить субъективный фактор при учете результатов, поскольку он проводится в автоматическом режиме.

Таблиця 4. Результати дослідження сывороток пацієнтів Запорозького обласного кожвендиспансера в тест-системі DIA®-Trep-different

№ образцов	Диагноз пациента	РПГА	РМП	Vitrotest Anti-Treponema	ИФА			
					DIA®-Trep-different			
					Антитела к антигенам			
Тр15	Тр17	Тр41	Тр47					
1	Обследов.	Отриц.	Отриц.	Отриц.	-	-	-	-
2	Обследов.	2+	Отриц.	Сомнит.	+	+	-	-
3	L. II recidiva	3+	3+	Положит.	+	+	+	+
4	L. latens ignorata	3+	2+	Положит.	+	+	-	-
5	L. latens tarda	2+	2+	Отриц.	-	-	-	-
6	L. II recidiva	4+ 1/640	4+	Положит.	+	+	+	+
7	L. I. latens	3+	3+	Положит.	+	+	-	+
8	Обследов.	3+	3+	Положит.	+	+	+	+
9	L. congenita	3+	3+	Положит.	+	+	+	+
10	L. congenita	3+	3+	Положит.	+	+	+	+
11	Обследов.	4+ 1/80	4+	Положит.	+	+	+	+
12	Обследов.	2+	Отриц.	Положит.	+	+	-	+
13	Обследов.	2+	Отриц.	Положит.	+	+	-	-
14	Обследов.	Отриц.	Отриц.	Сомнит.	+	+	-	-
15	L. latens ignorata	3+	2+	Положит.	+	+	-	+
16	L. I latens	4+ 1/160	4+	Положит.	+	+	+	+
17	Ложнопол.	Отриц.	3+	Отриц.	-	-	-	-
18	L. I latens выявлен после родов	4+ 1/160	4+	Положит.	+	+	+	+
19	L. latens tarda	3+	2+	Положит.	+	+	-	-
20	L. congenita (мать не лечилась)	2+	2+	Положит.	+	+	+	+
21	L. latens tarda	3+	2+	Положит.	+	+	+	+
22	Острый хламидиоз	Отриц.	Отриц.	Отриц.	-	-	-	-
23	ИБС	4+ 1/640	4+	Положит.	+	+	+	+
24	Туберкулез костей	4+ 1/640	4+	Положит.	+	+	+	+
25	L. latens tarda	3+	2+	Положит.	+	+	+	+
26	Сахарный диабет	3+	2+	Положит.	+	+	+	+
27	Гепатит С	3+	2+	Положит.	+	+	-	-
28	Хронический уретрит	Отриц.	Отриц.	Отриц.	-	-	-	-
29	L. latens tarda	3+	2+	Положит.	+	+	+	+
30	L. latens ignorata	2+	Отриц.	Положит.	+	+	-	-
31	L. latens tarda	3+	Отриц.	Положит.	+	+	+	+
32	L. latens tarda	3+	4+	Положит.	+	+	+	+
33	Сероконтроль	3+	4+	Положит.	+	+	+	+

Выводы

1. Иммуноферментная тест-система DIA®-Trep-different по способности выявлять антитела к *T. pallidum* является более чувствительным методом серодиагностики по срав-

нению с общепринятыми тестами — РВ, РПГА, РМП.

2. Тест-система DIA®-Trep-different более информативная по сравнению с иммуноферментными тест-системами, предназначенными для

Таблиця 5. Сравнительные исследования сывороток крови больных сифилисом в тест-системах DIA®-Trep-different и «Лайн-Блот Сифилис» (ООО ЭКОлаб)

№ образца	Диагноз пациента	Тест-системы							
		Лайн-Блот Сифилис**				DIA®-Trep-different			
		Антитела к антигенам							
		Тр15	Тр17	Тр41	Тр47	Тр15	Тр17	Тр41	Тр47
		ОП/cut off*							
562	L. I seropositiva	3+	4+	4+	3+	5,6	18,8	20,4	8,8
703	L. I seropositiva	0,5+	1+	0,5+	3+	6,8	17,0	0,1	9,0
813	L. I seropositiva	0,5+	0,5+	0,5+	1+	4,9	12,3	0,3	1,2
889	L. I seropositiva	3+	4+	4+	2+	5,0	18,4	9,7	2,7
954	L. I seropositiva	2+	4+	2+	3+	2,1	21,0	0,2	18,0
892	L. I seropositiva	3+	4+	3+	4+	5,7	19,1	14,7	18,0
471	L. II recidiva	0,5+	2+	2+	2+	0,8	19,4	0,2	1,9
795	L. II recidiva	0,5+	—	—	0,5+	5,2	5,5	0,1	4,3
972	L. II recidiva	4+	4+	4+	4+	18,8	20,1	7,0	20,0
981	L. II recidiva	1+	3+	1+	0,5+	8,0	22,1	0,1	0,2
524	L. latens praecox	3+	4+	4+	3+	5,4	21,6	3,5	6,8
608	L. latens praecox	3+	4+	3+	4+	2,4	24,1	7,7	5,0
984	L. latens praecox	3+	4+	2+	3+	18,0	19,6	0,8	18,2
38	L. latens ignorata	0,5+	1+	0,5+	0,5+	1,2	4,0	0,1	0,3
390	L. latens ignorata	0,5+	2+	2+	2+	4,1	11,8	0,1	2,9
956	L. latens ignorata	0,5+	1+	0,5+	0,5+	1,5	10,0	0,1	0,1
962	L. latens ignorata	1+	4+	3+	2+	5,2	20,9	3,9	9,3

Примечание. *При соотношении ОП/cut off $\geq 1,0$ результат положительный; при ОП/cut off $< 1,0$ — результат отрицательный;

**по результатам иммуноблота: одна линия 0,5+ — результат отрицательный, одна линия 1+ — результат неопределенный, две линии не менее 0,5+ — результат положительный.

скрининговых исследований, поскольку определяет антитела к отдельным антигенам возбудителя сифилиса, что позволяет установить активность и стадию инфекционного процесса.

3. Тест-система DIA®-Trep-different по способности дифференцированного определения антител к наиболее иммуногенным антигенам *T. pallidum* не только не уступает иммуноблоттингу «Лайн-Блот Сифилис», но и в отличие от

него исключает субъективный фактор учета результата реакции, упрощает диагностическую процедуру, а также сокращает время проведения анализа.

4. Тест-система DIA®-Trep-different по диагностическим характеристикам и потребительским качествам может быть использована для подтверждающих исследований при обследовании на сифилис.

Список литературы

1. Бондаренко Г.М., Унучко С.В., Губенко Т.В., Матюшенко В.П. Клініко-епідеміологічні особливості сифілісу на сучасному етапі // Дерматол. та венерол.— 2014.— Т. 64, № 2— С. 65—70.
2. Похоренков В.И., Шергин С.Н., Карачева Ю.В. Скрытый сифилис: современное состояние проблемы // ИППП.— 2000.— № 1.— С. 9—15.
3. Тацкая Л.С. Серологическая диагностика сифилиса: новые подходы к решению старых проблем // Дерматол. та венерол.— 2003.— Т. 12, № 3.— С. 61—62.
4. Binnicker M.J., Jespersen D.J., Rollins L.O. Direct comparison of the traditional and reverse syphilis screening algorithms in a population with a low prevalence of syphilis // J. Clin. Microbiol.— 2012.— Vol. 50, N 1.— P. 148—150.
5. Larsen S.A., Steiner B.M., Rudolph A.H. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis // Clin. Microbiol. Rev.— 1995.— Vol. 8, N 1.— P. 1—21.
6. Mattei P.L., Beachkofsky T.M., Gilson R.T., Wisco O.J. SYPHilis: a reemerging infection // Am. Fam. Physician.— 2012.— Vol. 86, N 5.— P. 433—440.
7. Sena A.C., White B.L., Sparling P.F. Novel *Treponema pallidum* serological tests: paradigm shift in syphilis screening

- for the 21st century // Clin. Infect. Dis.— 2010.— Vol. 51, N 6.— P. 700—708.
8. Sun Ran, Lai Di-hui, Ren Rong-xin, Lian Shi, Shang Hai-

ping *Treponema pallidum* — specific antibody expression for the diagnosis of different stages of syphilis // Chinese Medical Journal.— 2013.— Vol. 126, N 2.— P. 206—210.

Т.Ю. Трохимчук¹, Т.В. Грицан², О.А. Зверева³, Н.О. Дмитрієва¹, Л.М. Мойса¹,
Ю.І. Горлов¹, Л.О. Ганова⁴

¹ПрАТ «НВК «Діапроф-Мед», Київ

²Обласний шкірно-венерологічний диспансер, Миколаїв

³Обласний шкірно-венерологічний диспансер, Запоріжжя

⁴Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, Київ

Імуноферментна тест-система для диференційного визначення антитіл до антигенів збудника сифілісу

Мета роботи — дослідження діагностичних можливостей імуноферментної тест-системи DIA[®]-Trep-different (ПрАТ «НВК «Діапроф-Мед», Київ), призначеної для диференційного визначення антитіл до найбільш імуногенних антигенів *T. pallidum*, порівняно із загальноприйнятими лабораторними методами та імуноблотингом.

Матеріали та методи. Здатність тест-системи DIA[®]-Trep-different діагностувати антитіла до *T. pallidum* перевірено на панелі сироваток/плазми крові PSS201 (BBI), що складається з 23 позитивних на сифіліс зразків та 2 негативних, а також на 154 сироватках крові хворих на сифіліс на різних стадіях захворювання. Діагностичні можливості тест-системи визначали в порівняльних дослідженнях з РВ, РПГА РМП. При диференційному визначенні антитіл до антигенів *T. pallidum* як тест-систему порівняння використовували лінійний імуноблотинг «Лайн-Блот Сифіліс» (ЗАТ «ЕКОлаб»).

Результати та обговорення. Тест-система DIA[®]-Trep-different всі 23 сироватки панелі PSS201, що містять антитіла до *T. pallidum*, визначила позитивними. У 20 зразках виявлено антитіла до Tr15, Tr17, Tr41 Tr47, в 1 — до Tr15, Tr17, Tr41, у 2 — до Tr15, Tr17. У дослідженні сироваток хворих на сифіліс тест-система DIA[®]-Trep-different діагностувала захворювання на всіх стадіях розвитку патологічного процесу, зокрема і ранню та приховану форми інфекції, тоді як у деяких зразках РВ і РМП не виявляли специфічних антитіл. Здатність імуноферментної тест-системи визначати антитіла до антигенів збудника співвідносилася з імуноблотингом. Однак тест-система давала можливість виключити суб'єктивний фактор під час обліку результатів аналізу, оскільки він проводиться в автоматичному режимі.

Висновки. Імуноферментна тест-система DIA[®]-Trep-different за здатністю діагностувати антитіла до *T. pallidum* не поступається загальноприйнятим методам серодіагностики РВ, РПГА, РМП і є інформативнішою, оскільки визначає антитіла до окремих антигенів збудника. Тест-система DIA[®]-Trep-different за здатністю диференційовано визначати специфічні антитіла не поступається імуноблотингу «Лайн-Блот Сифіліс» і дає можливість обліковувати результати в автоматичному режимі, спрощуючи і скорочуючи діагностичну процедуру.

Ключові слова: діагностика сифілісу, імуноферментний аналіз, диференційна діагностика антитіл до *T. pallidum*.

T.Yu. Trochymchuk¹, T.V. Gritsan², O.A. Zverev³, N.O. Dmitrieva¹, L.M. Moysa¹,
Yu.I. Gorlov¹, L.O. Ganova⁴

¹PJSC SPC Diaprof-Med, Kyiv

²Regional Skin-Venereal Diseases Dispensary, Nikolaev

³Regional Skin-Venereal Diseases Dispensary, Zaporizhzhia

⁴D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine, Kyiv

Enzyme immunoassay test kit for differential detection of antibodies to immunogenic antigens of syphilis pathogen

Objective — to study the diagnostic ability of ELISA test kit «DIA[®]-Trep-different» (PJSC «SPC “Diaproch-Med”», Kyiv) for the differential detection of antibodies to the most immunogenic antigens of *T. pallidum* compared to conventional laboratory methods and immunoblotting.

Materials and methods. The ability of the «DIA[®]-Trep-different» test kit to detection of antibodies to *T. pallidum* was detected on panel of sera/plasma samples PSS201 (BBI), consisting of 23 syphilis positive and 2 negative samples, and 154 sera samples of syphilis patients with different stages of the disease. The diagnostic ability of test kit was determined in comparative investigates with RW, passive hemagglutination test, RMP. The Western Blot «Line-Blot SYPHilis» (JSC «ECOlab») was used as comparative test in the study.

Results and discussion. The 23 sera samples of PSS201 panel, which contained antibodies to *T. pallidum*, were detected as positive in «DIA[®]-Trep-different» test kit. Antibodies to Tr15, Tr17, Tr41 and Tr47 were detected in 20 sera samples, antibodies to Tr15, Tr17, Tr41 were detected in 1 sera sample and antibodies to Tr15, Tr17 were detected in 2 sera

samples. All stages of the disease, including early and latent forms of the infection, were diagnosed using the «DIA®-Trep-different» test kit, when PB and RMP did not detect the specific antibodies in some samples in this study. The ability of the ELISA test kit to perform differential detection of antibodies to antigens of *T. pallidum* was comparable to immunoblotting. Taking into account the analysis results, the subjective factor could be eliminated if assay is performed in automatic conditions.

Conclusions. By the ability to detect antibodies to *T. pallidum* ELISA «DIA®-Trep-different» test kit is not inferior to conventional serodiagnostic methods of RW, passive hemagglutination test, RMP and the results obtained by this test kit are more informative, because they are able to detect antibodies to specific antigens of the pathogen. The ability of «DIA®-Trep-different» test kit to perform differential detection of specific antibodies is not inferior to immunoblotting «Line-Blot Syphilis» and allows accounting the results in automatic conditions, simplifying and shortening the time of the diagnostic procedure.

Key words: diagnosis of syphilis, ELISA, differential detection of antibodies to *T. pallidum*.

Дані про авторів:

Трохимчук Тетяна Юрійвна, наук. співр. лабораторії імунохімії ПрАТ «НВК «Діапроф-Мед»
04123, м. Київ, вул. Світлицького, 35. Тел. (044) 433-75-82

Грицан Тетяна Володимирівна, зав. лабораторії Миколаївського обласного шкірно-венерологічного диспансеру

Зверєва Оксана Антонівна, зав. лабораторії Запорізького обласного шкірно-венерологічного клінічного диспансеру

Дмитрієва Наталія Олександрівна, зав. групи очищення білків ПрАТ «НВК «Діапроф-Мед»

Мойса Лариса Миколаївна, к. біол. н., ст. наук. співр. лабораторії біотехнології ПрАТ «НВК «Діапроф-Мед»

Горлов Юрій Іванович, директор з якості ПрАТ «НВК «Діапроф-Мед»

Ганова Лариса Олександрівна, к. біол. н., ст. наук. співр. лабораторії проблем інтерферону та інших імуномодуляторів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, Київ