

Сборник научных трудов. Выпуск 1. / Государственное учреждение «НИИ эпидемиологии и микробиологии» - Минск: Белпринт., 2008. – С. 272-275.

РЕАКЦИЯ ПАССИВНОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ (РПГА) В ДИАГНОСТИКЕ СИФИЛИСА: ВОЗМОЖНОСТИ И ГОРИЗОНТЫ ПРИМЕНЕНИЯ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Панкратов О.В., Панкратов В.Г., Салук Ю.В., Петрикина И.В., Карпович А.П., Сысова И.П.

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Белорусский государственный медицинский университет, УЗ «Городской клинический кожно-венерологический диспансер» (г. Минск)

История серологической диагностики сифилиса берёт своё начало с публикации А. Wasserman и соавторов в 1906 году об использовании реакции связывания комплемента Борде и Жангу для выявления антител к *Treponema pallidum*. Антигеном служила водная вытяжка из печени мертворожденного сифилитического плода, в которой по мнению авторов статьи содержалось много бледных трепонем – возбудителя болезни. В знак заслуг руководителя авторского коллектива этой разработки она известна в мировой сифилидологии как реакция Вассермана [1, 2].

Сифилитическая инфекция может протекать классически (или стадийно), скрыто и бессимптомно; известен также вариант течения сифилиса, заканчивающийся самоизлечением [1, 3]. Клинический диагноз всегда должен подтверждаться данными серологического исследования. За прошедшие сто лет создан целый спектр высокоэффективных методов серологической диагностики сифилиса [2, 3, 4].

В настоящее время различают нетрепонемные или скрининговые и подтверждающие диагноз трепонемные тесты. Скрининговые (отборочные) тесты выявляют реакины – антитела классов IgM и IgG к кардиолипину, которые могут выявляться и при других физиологических и патологических состояниях и могут давать ложно положительные результаты на сифилис (до 2,5 %). В нашей стране в качестве отборочных реакций на сифилис применяются реакция Вассермана с кардиолипинным антигеном (экстракт из сердца быка, обогащенный лецитином и холестеринном) и микрореакцию преципитации (МРП) с плазмой или инактивированной сывороткой, которая ставится с кардиолипинным антигеном. Специфичность МРП составляет 98%, а чувствительность – при первичном сифилисе равна 81%, при вторичном – только 91%, при раннем скрытом – 94%,

Однако положительные результаты нетрепонемных тестов не могут считаться достаточными для постановки диагноза сифилитической инфекции без дополнительного подтверждения в трепонемных тестах.

Специфические серологические тесты называются трепонемными, потому что они предполагают применение антигенов трепонемного происхождения. К ним относятся:

– Реакция связывания комплемента (реакция Вассермана) с трепонемным антигеном – РСКт;

– Реакция иммобилизации бледных трепонем – РИБТ или РИТ, в зарубежной литературе она идет под названием ТРІ (*Treponema pallidum immobilization test*);

– Реакция иммунофлюоресценции – РИФ, в зарубежной литературе называется FTA (*Fluorescent treponemal antibody*). Она применяется в нескольких модификациях: РИФ-200 (FTA-200); РИФ-абс (FTA-abs, FTA-abs double staining; FTA-abs IgM; 19S (IgM)-FTA-abs); РИФц – реакция иммунофлюоресценции с цельной кровью или спинномозговой жидкостью;

– Реакция пассивной гемагглютинации – РПГА, в зарубежной литературе известна под названием ТРНА (*Treponema pallidum haemagglutination assay*);

– Иммуноферментный анализ - ИФА, за рубежом называется ELISA – Enzymelinked immunosorbent assay);

– Иммуноблотинг, в зарубежной литературе называется Western Blot.

В странах Западной Европы и Америки давно отказались от постановки РВ, основными недостатками которой являются: сравнительно низкая чувствительность, наличие ложноположительных результатов, сложность постановки и большая её длительность (до 4,5-5 часов), предварительная подготовка исследуемых сывороток (прогревание), необходимость тщательной подготовки исходных реагентов (титрование комплемента и гемолитической сыворотки, отмывка эритроцитов барана, разведение кардиолипинового антигена). Реагенты и саму реакцию сложно стандартизировать, постановка реакции в целом весьма трудозатратна. Поэтому её заменили другими серологическими тестами. В 2006 году Россия также перешла на новый диагностический комплекс, отказавшись от РВ. Они отдали предпочтение микрореакции в качестве отборочной реакции, а в качестве подтверждающих диагнозов используют трепонемные тесты ИФА и РПГА [2, 3].

Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) была разработана Rathlev T. в 1965 и 1967 г. [5]. Антигеном в реакции выступают эритроциты барана или птиц, обработанные вначале формалином, затем танином и сенсibilизированные ультразвуком антигеном бледной трепонемы (штамм Никольс). Принцип реакции состоит в том, что при добавлении исследуемой сыворотки в лунку с антигеном может образовываться комплекс антиген-антитело, связанный с поверхностью носителя, при наличии специфических противотрепонемных антител в сыворотке. Визуально это проявляется склеиванием эритроцитов, т.е. гемагглютинацией. В каждой серии постановок используют положительный и отрицательный контроль. Из специального оборудования для её постановки нужен лишь планшет для гемагглютинации. Результат реакции учитывается через 45-60-120 минут визуально.

Разработаны количественный метод постановки РПГА, микрометод, а также автоматизированная реакция микрогемагглютинации [3].

Реакция становится положительной уже через 3-4 недели после заражения и сохраняется положительной спустя годы после лечения. В зависимости от стадии сифилиса чувствительность РПГА составляет: при первичном сифилисе – 76 %, при вторичном сифилисе – 100 %, при скрытом – 97 %, при позднем – 94 %, а специфичность – 99 %. Число ложноположительных и ложноотрицательных результатов меньше, чем при других серологических тестах. Так, ложноположительные результаты регистрировались (в сумме менее 1 %) у наркоманов, у больных инфекционным мононуклеозом, лепрой, при коллагенозах [3, 4].

Цель настоящего исследования: изучить чувствительность и специфичность РПГА с использованием набора ингредиентов, производства «Эко-Лаб» (Россия).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Постановка РПГА проводилась параллельно с другими методами серологической диагностики сифилиса: реакция связывания комплемента с кардиолипиновым и трепонемным антигенами, МРП, РИФ. Серологические тесты были исследованы у 28 больных сифилисом на разных стадиях лечения и клинико-серологического наблюдения, 14 пациентов, обследовавшихся на сифилис, 4 онкологических больных, 3 больных туберкулёзом легких, 2 больных пневмониями, 1 больного гонореей, 2 пациентов при обследовании на предмет снятия с диспансерного наблюдения после лечения сифилиса и окончания срока клинико-серологического контроля. Постановка РПГА проводилась с использованием диагностикума «Сифилис РПГА-тест», производства «Эко-Лаб» (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех больных сифилисом, находившихся на лечении или клинико-серологическом диспансерном наблюдении, РПГА было резко положительной с титрами антител от 1 : 160 до 1 : 2560. У 12 из 14 пациентов, проходивших клинико-серологическое обследование на сифилис, диагноз был подтвержден положительной РПГА. Чувствительность РПГА у этих групп пациентов оказалась выше, чем при постановке РВ, МРП и даже РИФ. У онкологических больных, больных туберкулёзом лёгких и пневмонией, у больного гонореей РПГА и другие серологические реакции были отрицательные. Воспроизводимость результатов РПГА составила 100 %, чувствительность исследованного набора реагентов «Сифилис РПГА-тест» составила 100 %, специфичность – тоже 100 %. Апробация метода в клинической практике показала, что он является исключительно простым, дешёвым и чувствительным.

Преимуществами РПГА по сравнению с РИТ и РИФ являются: использование промышленных тест-систем, возможность автоматизации реакции, нет необходимости работать с живой бледной трепонемой, отпадает потребность в виварии. По данным литературы, РПГА стабильно заняла лидирующее место в клинической практике в большинстве стран мира (по соотношению специфичности, чувствительности, простоты постановки, стандартизации реагентов, стоимости одного исследования) [2, 3, 4, 5].

Однако следует помнить, что РПГА, равно как и другие специфические трепонемные реакции (РИФ, ИФА, РИТ), не предназначены для оценки эффективности лечения, поскольку их позитивность сохраняется часто многие годы после окончания лечения, нередко до конца жизни пациента [2, 3].

В нашей стране РПГА прошла апробацию в нескольких лабораториях областных КВД с хорошими обнадеживающими результатами. Для её быстреего внедрения необходимы обучающие семинары для врачей-серологов, централизованная закупка оборудования и диагностических наборов, подготовка нового приказа по серологической диагностике сифилиса. Переход на новый комплекс серологических реакций с внедрением РПГА для диагностики сифилиса потребует пересмотра протоколов ведения и снятия с учёта больных сифилисом.

Литература

1. Аковбян В.А., Прохоренков В.И., Новиков А.И., Гузей Т.Н. Сифилис. Иллюстрированное руководство (ред. В.И.Прохоренков). – М.: Медкнига. -2002. – С. 194-201.
2. Аковбян А.А., Нестеренко В.Г., Богуш П.Г., Редченко Е.Б., Гинзбург В.А. Новый серологический комплекс для диагностики сифилиса. // Клин. дерматол. и венерол. - 2004. -№ 2. – С. 63-65.
3. Дмитриев Г.А., Фриго Н.В. Сифилис. Дифференциальный клинико-лабораторный диагноз. – М.: Медицинская книга. – 2004. – С. 26-45.
4. Панкратов В.Г., Панкратов О.В., Крукович А.А., Журавская Л.В., Ховратович М.В. Возможности и перспективы серологической диагностики сифилиса в Республике Беларусь. // Здравоохранение. – 2006. - № 6. – С. 35 – 39.
5. Rathlev, T. Haemagglutination test utilizing pathogenic *Treponema pallidum* for the serodiagnosis of syphilis / T. Rathlev // British. J. Vener. Dis. – 1967. – Vol. 43. – P. 181–185.