

Длительность определения специфических IgM у больных ранним сифилисом после лечения

С.В. Ротанов^{1,2}, Ф.А. Эрматова²

¹ ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6

² ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

Для изучения длительности циркуляции в крови специфических антител к антигенам *T. pallidum* после лечения у больных ранними формами сифилиса было проведено исследование в ИФА_{IgM} 341 образца крови, полученного через 3—36 мес. после окончания адекватной антибактериальной терапии.

Показаны постепенное снижение в крови пациентов уровня трепонемоспецифических антител класса М по мере увеличения срока наблюдения и полная их элиминация к 36 мес. наблюдения. Не установлено достоверных различий в динамике снижения уровня специфических IgM и сроках негативации результатов исследования в ИФА_{IgM} в зависимости от применявшегося метода антибактериального лечения.

Ключевые слова: **сифилис, клинико-серологическое наблюдение, иммуноферментный анализ, иммуноглобулины класса М.**

Контактная информация: ermatova.fatima@mail.ru. Вестник дерматологии и венерологии 2015; (2): 116—121.

Duration of the determination of specific IgM antibodies in primary syphilis patients after treatment

S.V. Rotanov^{1,2}, F.A. Ermatova²

¹ State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation Korolenko str., 3, bldg 6, Moscow, 107076, Russia

² The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov Ostrovityanova street 1, Moscow, 117997, Russia

It was carried out a study with ALISA_{IgM} of 341 samples of the blood, obtained from the patients with the early forms of syphilis 3—36 months later the end of adequate antibacterial therapy with the purpose for studying the duration of circulation in the blood of specific antibodies IgM to the antigens *T. pallidum* after the treatment. It was shown gradual reduction of the levels of the anti-treponema antibodies of the class M in the blood with an increase of the period of observation and their total elimination to the period of 36 months. It was not established reliable differences within the dynamics of a decrease in the levels of specific IgM and the periods of negativation of the ALISA_{IgM} results depending on the adequate method of antibacterial therapy.

Key words: **syphilis, serological observation, immunoenzyme analysis, the immunoglobulin of class M.**

Corresponding author: ermatova.fatima@mail.ru. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2015; 2: 116—121.

■ При инфицировании *Treponema pallidum* в организме человека формируется ответ иммунной системы с преимущественным участием ее гуморального звена. Современными иммунохимическими методами специфические антитела класса М к антигенам возбудителя в крови больных сифилисом определяются уже на 10—14-й день после заражения. По мере развития инфекции содержание антител этого класса продолжает увеличиваться, достигая наивысшего уровня к 6—9 нед. заболевания, что соответствует клинической картине сифилиса первичного или вторичного свежего [1—5]. При отсутствии своевременной диагностики заболевания содержание иммуноглобулинов класса М (IgM) у больных сифилисом вторичным постепенно снижается и ведущая роль в гуморальном ответе переходит к специфическим антителам классов G и A [2—8].

В результате ранее проведенных исследований с новыми диагностическими наборами реагентов российского производства нами было установлено, что частота определения трепонемоспецифических IgM в реакции непрямой иммунофлюоресценции (РИФ_{абс} — IgM) и иммуноферментном анализе (ИФА_{IgM}) наиболее высокая у больных сифилисом первичным (97,3 и 95,9% соответственно) и вторичным (93,5 и 89,5% соответственно). При скрытых клинических формах этой инфекции изучавшиеся нами методы лабораторной диагностики были менее информативными: при сифилисе скрытом раннем специфические IgM определялись в 61,6 и 53,9% случаев, при скрытом неуточненном как ранний или поздний — в 52,5 и 42,1%, а при скрытом позднем — в 16,67 и 26,19% соответственно [9]. Эти данные согласовались с публикациями других авторов, что подтверждало качество разработанных наборов реагентов и высокую клиническую информативность их использования при раннем сифилисе [10—15].

После адекватной терапии антибактериальными препаратами у больных ранним сифилисом вследствие прекращения антигенной стимуляции продукция специфических IgM постепенно угасает, и они элиминируются из кровотока через 3—12 мес. [16—20]. Отрицательные результаты в ИФА_{IgM} у больных ранним сифилисом через 6 и 12 мес. после окончания терапии определяются в 71 и 92% случаев соответственно [20], однако некоторые авторы отмечают персистенцию антител указанного класса в крови даже до 18 мес. после окончания лечения [21].

Ряд исследователей акцентировали внимание на значимости выявления в крови IgM как маркеров присутствия в макроорганизме активного возбудителя заболевания в случаях реинфекции или неудач в проведении антибактериальной терапии [2, 22—24].

Цель работы: изучение длительности циркуляции в крови и выявления трепонемоспецифических антител класса М современными иммунохимическими методами у больных ранними формами сифилиса после проведения им полноценной антибактериальной терапии.

Материал и методы

Для определения трепонемоспецифических антител класса М использовали наборы реагентов для ИФА_{IgM} «ИФА-АНТИ-ЛЮИС-М» (тест-система иммуноферментная для выявления антител класса М к возбудителю сифилиса) производства ООО «НПО «Диагностические системы», кат. № L-154 и L-155 (Н. Новгород, Россия), разрешенные к применению в России: по ТУ 9398-201-0591003-2008 (РУ № ФСР 2009/04818 от 06.05.2009) и ТУ 9398-201-05941003-2012 (РУ № РЗН 2013/126 от 26.02.2013).

С помощью ИФА_{IgM} был изучен 341 образец сыворотки крови, полученной в научно-консультативном отделении ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России от больных ранними формами сифилиса (сифилис первичный — 30 больных, сифилис вторичный — 148 и сифилис скрытый ранний — 163) после окончания специфического лечения в период проведения клинико-серологического наблюдения над ними с целью оценки излеченности от сифилиса. Условием отбора образцов крови пациентов для включения в настоящее исследование являлось отсутствие в медицинской документации указаний на нарушение режима лечения и проведение им полного курса назначенной терапии.

Результаты и их обсуждение

Обследованная группа пациентов включала 151 (44,28%) мужчину и 190 (55,72%) женщин в возрасте от 29 до 65 лет. Все пациенты в период с 2010 по 2013 г. получили адекватную антибактериальную терапию по поводу ранних форм сифилиса в соответствии с Методическими рекомендациями, утвержденными Минздравом России (1999 г.), и Клиническими рекомендациями Российского общества дерматовенерологов и косметологов (2010 и 2012 гг.) [25—27]. Лечение цефтриаксоном получали 207 (60,70%) пациентов, бензатина бензилпенициллином — 134 (39,30%) пациента, в том числе бициллин-1 получали 123 (36,07%) пациента и ретарпен — 11 (3,23%).

Образцы крови для исследования были взяты в разные сроки наблюдения (от 3 мес. до 3 лет) (табл. 1).

При исследовании 69 образцов сыворотки крови, полученных от больных сифилисом через 3 мес. после окончания антибактериальной терапии, положительные результаты в ИФА_{IgM}, свидетельствовавшие о циркуляции в крови обследованных лиц трепонемоспецифических IgM, наблюдали в 37 (53,62%) случаях, а отрицательные результаты (отсутствие антител в крови) — в 32 (46,38%) случаях.

В аналогичных исследованиях в ИФА_{IgM} образцов крови, полученных от больных сифилисом через 6, 9, 12 и 24 мес. после окончания лечения, положительные результаты были получены с 32 (50,79%) из 63 образцов, с 19 (37,25%) из 51, с 14 (18,92%) из 74 и с 6 (17,78%) из 45 образцов соответственно, а от-

Таблица 1

Число образцов крови, полученных от больных ранними формами сифилиса, с учетом времени, прошедшего после окончания специфического лечения

Срок наблюдения после окончания терапии	Число образцов крови
3 мес.	69
6 мес.	63
9 мес.	51
12 мес.	74
24 мес.	45
36 мес.	39
Всего	341

рицательные результаты — с 31 (49,21%), 32 (62,75%), 58 (78,38%) и 37 (82,22%) образцами сыворотки крови соответственно.

Изучение в ИФА_{IgM} 39 образцов крови, полученных от больных ранними формами сифилиса через 36 мес. клинико-серологического наблюдения после лечения, не дало доказательств присутствия в пробах специфических антител класса М к антигенам возбудителя заболевания, т. е. положительных результатов зарегистрировано не было, со всеми 39 (100%) пробами наблюдали отрицательные результаты теста (рис. 1).

Представленные результаты позволили заключить, что продукция специфических антител класса М у больных, получивших адекватное антибактериаль-

ное лечение по поводу ранних форм сифилиса, прекращается не сразу. При отсутствии антигенной стимуляции количество пациентов, в крови которых не определяется содержание трепонемоспецифических антител класса М, по мере увеличения сроков наблюдения постепенно возрастает, и указанные антитела перестают выявляться полностью через 3 года после завершения терапии.

Средняя величина коэффициента позитивности (КП) положительных результатов исследования в ИФА_{IgM} образцов крови больных сифилисом после лечения через 3 мес. составила $7,23 \pm 2,54$, через 6 мес. — $6,11 \pm 1,56$, через 9 мес. — $4,92 \pm 1,36$, через 1 год — $2,89 \pm 0,93$ и через 2 года — $1,52 \pm 0,52$ (рис. 2).

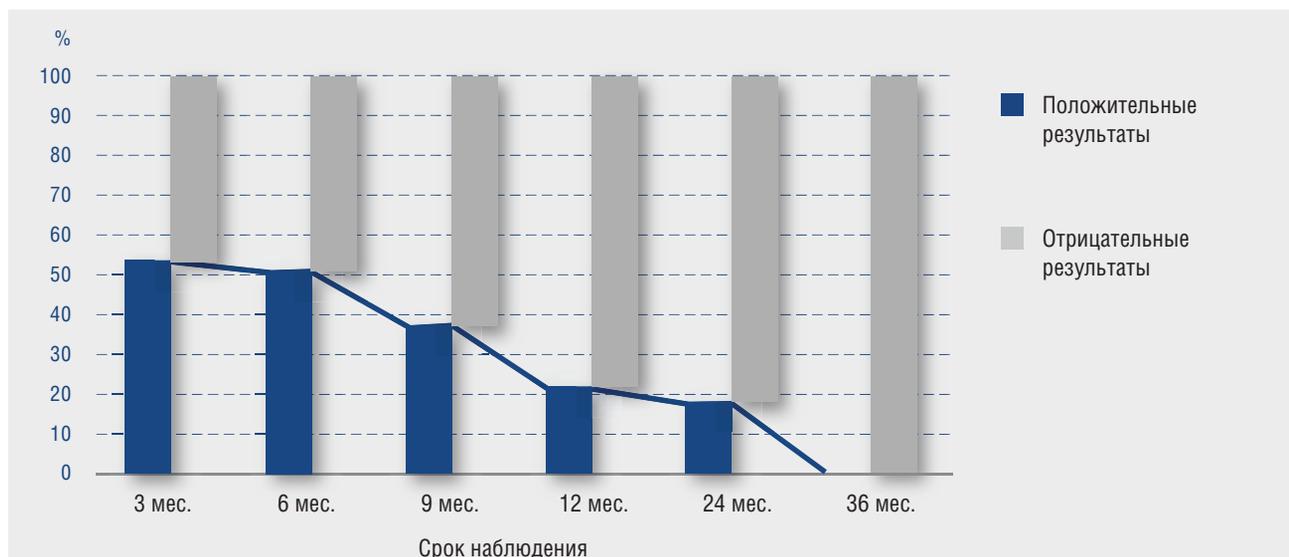


Рис. 1. Соотношение количества положительных и отрицательных результатов в ИФА_{IgM} при исследовании образцов крови больных сифилисом в различные сроки наблюдения после лечения

Динамика величины КП положительных результатов определения трепонемоспецифических IgM к антигенам *T. pallidum* в период клинико-серологического наблюдения больных также подтверждала постепенный характер снижения концентрации этих антител в сыворотке крови вплоть до их полной элиминации. Срок полного исчезновения указанных антител из кровотока пациентов после лечения ранних форм сифилиса в нашем исследовании не превышал 36 мес.

Нами также был проведен анализ изменения показателей содержания антител класса М к бледной трепонеме в зависимости от метода терапии (применявшегося антибактериального препарата).

Характеристика образцов крови, исследованных на разных сроках клинико-серологического наблю-

дения с учетом метода проведенной терапии, приведена в табл. 2.

При изучении результатов исследования образцов крови пациентов, леченных цефтриаксоном, через 3, 6, 9, 12, 24 и 36 мес. после окончания лечения положительные результаты в ИФА_{IgM} были получены с 21 (53,84%) из 38 образцов, с 20 (51,28%) из 39, с 14 (38,89%) из 36, с 8 (18,19%) из 44, с 6 (19,35%) из 31 и с 0 (0%) из 19 образцов соответственно, а отрицательные результаты — с 17 (44,73%), 19 (48,72%), 22 (61,11%), 28 (63,64%), 24 (77,42%) и 19 (100%) образцов сыворотки крови соответственно.

В подгруппе сывороток крови, представленных от пациентов, получавших препараты на основе бензатина бензилпенициллина (бициллин-1 и ретарпен), положительные результаты в ИФА_{IgM} через 3, 6, 9, 12, 24

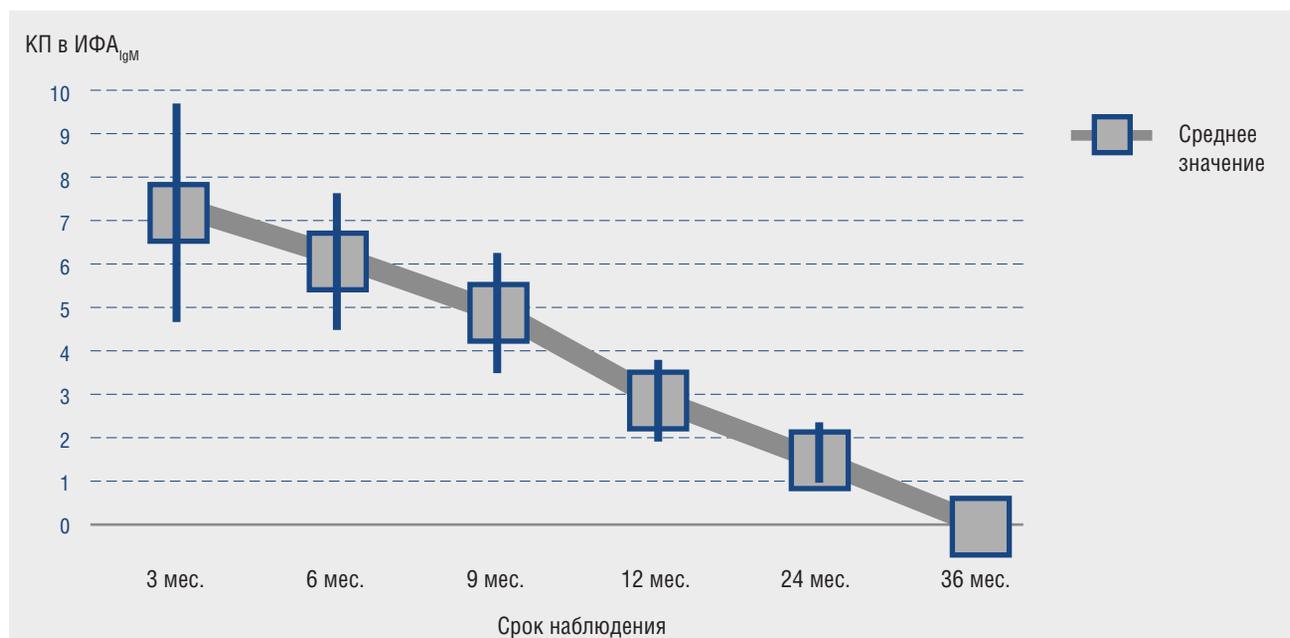


Рис. 2. Средние значения показателя КП результатов ИФА_{IgM} при исследовании образцов крови больных сифилисом в различные сроки наблюдения после лечения

Таблица 2

Число образцов крови, полученных от больных ранними формами сифилиса после окончания специфического лечения крови с учетом метода терапии

Антибактериальный препарат	Число образцов крови, полученных через <i>n</i> месяцев после окончания терапии						Всего
	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	24 мес.	36 мес.	
Цефтриаксон	38	39	36	44	31	19	207
Бензатина бензилпенициллин	31	24	15	30	14	20	134
Итого	69	63	51	74	45	39	341

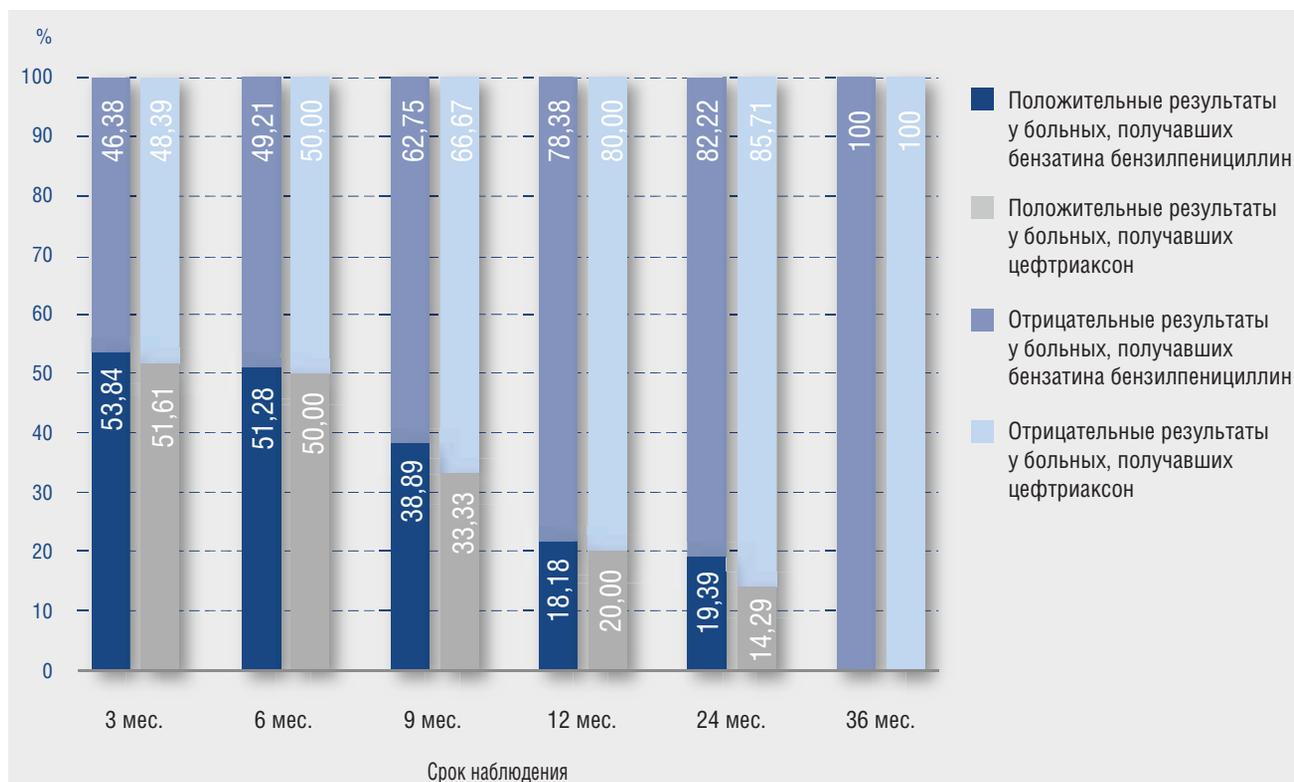


Рис. 3. Соотношение положительных и отрицательных результатов ИФА_{IgM} при исследовании образцов крови больных сифилисом в различные сроки после терапии различными антибактериальными препаратами

и 36 мес. после лечения наблюдали в 16 (51,61%) из 31 случая, в 12 (50,00%) из 24, в 5 (33,33%) из 15, в 6 (20,00%) из 30, в 2 (14,29%) из 14 и в 0 (0%) из 20 случаев соответственно, а отрицательные результаты — в 15 (48,39%), 12 (50,00%), 10 (66,67%), 24 (80,00%), 12 (85,71%) и 20 (100%) случаях соответственно.

Сопоставление полученных данных в графическом виде представлено на рис. 3, который демонстрирует отсутствие достоверных различий в сроках циркуляции антител класса М у больных ранними формами сифилиса, получивших лечение цефтриаксоном или бензатина бензилпенициллином.

Продукция антител класса М у больных ранним сифилисом после окончания стимуляции гуморального иммунитета антигенами *T. pallidum* прекращается постепенно, этот процесс при проведении адекватной терапии не зависит от используемого вида антибактериального препарата, оказывающего эффективное лечебное воздействие.

Заключение

Таким образом, на основании изучения в ИФА_{IgM} образцов крови, представленных от больных, получивших полноценное антибактериальное лечение по поводу ранних форм сифилиса (в соответствии с ре-

комендациями, утвержденными Минздравом России, (1999 г.) и разработанными Российским обществом дерматовенерологов и косметологов (2010 и 2012 гг.)), было установлено, что после окончания адекватной антибактериальной терапии происходит постепенное угасание интенсивности синтеза антител класса М к антигенам *T. pallidum*. Об этом свидетельствовало как уменьшение частоты выявления указанных антител у пациентов, так и снижение интенсивности аналитического сигнала (КП) в ИФА_{IgM} (отражающего концентрацию указанных антител в исследуемых образцах крови) по мере увеличения сроков клинико-серологического наблюдения.

При этом антитела класса М к антигенам бледной трепонемы в крови у отдельных больных методом ИФА_{IgM} могут определяться в 14,29—19,39% случаев через 24 мес. наблюдения; в нашем исследовании через 36 мес. наблюдения указанные антитела в крови пациентов не определялись. В связи с этим лабораторное обследование в ИФА_{IgM} не может быть рекомендовано для включения в комплекс показателей ближайших результатов наблюдения у больных ранними формами сифилиса в качестве критерия оценки эффективности проведенной антибактериальной терапии или достижения излеченности. ■

Литература

- Kern A. Fundamentals and prospects of syphilis serology. *Dermatol Monatsschr* 1979; 165 (11): 769—782.
- Ljahov V.F., Borisenko K.K., Potekaev N.S., Borisova T.K., Sidorova E.V. Dinamika treponemospecifichejke immunoglobulinemii pri rannih formah sifilisa. *Vestnik dermatologii i venerologii* 1990; (8): 38—42. [Ляхов В.Ф., Борисенко К.К., Потекаев Н.С., Борисова Т.К., Сидорова Е.В. Динамика трепонемоспецифической иммуноглобулинемии при ранних формах сифилиса. *Вестн дерматол венерол.* 1990; (8): 38—42.]
- Luger A. Serological diagnosis of syphilis; current methods. In Young H., McMillan A. (Eds.). *Immunological diagnosis of sexually transmitted diseases*. N-Y: Marcel Dekker, 1998: 249—274.
- Serdjuckaja M.V., Ivanov A.M., Ovsjannikov F.A., Gupalova T.V., Hodosevich E.V. *Russian journals of immunology* 2007; 9 (Suppl 1): 128—129. [Сердюцкая М.В., Иванов А.М., Овсянников Ф.А., Гупалова Т.В., Ходосевич Е.В. *Russian journals of immunology* 2007; 9 (Suppl 1): 128—129.]
- Krasnose'lskih T.V., Sokolovskij E.A. Sovremennyy sifilis: jepidemiologicheskie tendencii i dostizhenija v oblasti izucheniya *Treponema pallidum*. *Problemy sovremennoj dermatologii, venerologii i kosmetologii* 2010; (1): 84—87. [Красносельских Т.В., Соколовский Е.А. Современный сифилис: эпидемиологические тенденции и достижения в области изучения *Treponema pallidum*. *Проблемы современной дерматологии, венерологии и косметологии* 2010; (1): 84—87.]
- Kashkin K.P. Immunologicheskie issledovaniya v klinike infekcionnyh zabolevanij. *Novosti prikladnoj immunologii i allergologii*. 2004; 8: 1—10. [Кашкин К.П. Иммунологические исследования в клинике инфекционных заболеваний. *Новости прикладной иммунологии и аллергологии*. 2004; (8): 1—10.]
- Haitov R.M., Pinegin B.V. Sovremennye predstavlenija o zashhite organizma ot infekcij. *Immunologija* 2000; 1: 63—69. [Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. Современные представления о защите организма от инфекций. *Иммунология* 2000; (1): 63—69.]
- Tkachev V.K., Vjatkina T.G. IFA-diagnostika sifilisa: informacionno-metodicheskoe posobie. 3-e izd., 2005. [Ткачев В.К., Вяткина Т.Г. ИФА-диагностика сифилиса: информационно-методическое пособие. 3-е изд., 2005. URL: <http://www.vector-best.ru/brosh/9607.htm>]
- Rotanov S.V., Jermatova F.A. Informativnost' treponemospeci-ficheskih antitel klassa M pri diagnostike sifilisa. *Vestnik dermatologii i venerologii* 2013; 3: 48—55. [Ротанов С.В., Эрматова Ф.А. Информативность трепонемоспецифических антител класса М при диагностике сифилиса. *Вестн дерматол венерол.* 2013; (3): 48—55.]
- Lefevre J.-C., Bertrand M.-A., Bauriaud R. Evaluation of Capture Enzyme Immunoassays for Detection Immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* in Syphilis. *J Clin Microbiol* 1990; 28 (8): 1704—1707.
- Starchenko M.E., Granovich R.I., Danilov S.I. Znachenie opredelenija frakcii IgM v diagnostike sifilisa. *Vestnik dermatologii i venerologii* 1994; 1: 9—11. [Старченко М.Е., Гранович Р.И., Данилов С.И. Значение определения фракции IgM в диагностике сифилиса. *Вестн дерматол венерол.* 1994; 1: 9—11.]
- Schmidt B.L., Luger A., Duschet P. et al. Spezifische IgM-Teste in der Syphilis-Diagnose. *Hautarzt* 1994; 45 (10): 685—689.
- Schmidt B.L., Edjlalipour M., Luger A. Comparative evaluation of nine different enzyme-linked immunosorbent assays for determination of antibodies against *Treponema pallidum* in patients with primary syphilis. *J Clin Microbiol* 2000; 38 (3): 1279—1282.
- Chepurchenko N.V., Gladysheva M.V., Burkov A.N., Komarova V.D., Frigo N.V., Novikova S.I. Predvaritel'nye rezultaty aprobacii immunofermentnoj test-sistemy dlja opredelenija treponemospecificheskih IgM. *VIII Vserossijskij s'ezd dermatovenerologov*. M., 2001; II: 113—114. [Чепурченко Н.В., Гладышева М.В., Бурков А.Н., Комарова В.Д., Фриго Н.В., Новикова С.И. Предварительные результаты апробации иммуноферментной тест-системы для определения трепонемоспецифических IgM. *VIII Всероссийский съезд дерматовенерологов*. М., 2001; II: 113—114.]
- Guseva S.N., Danilov S.I. Ispolzovanie testa IgM-RIF₉₆ v obsledovanii beremennyh na aktivnost' sifiliticheskoj infekcii. *Ros. zhurnal kozhnyh i venericheskijh boleznej* 2004; 6: 60—63. [Гусева С.Н., Данилов С.И. Использование теста IgM-РИФ₉₆ в обследовании беременных на активность сифилитической инфекции. *Рос. журн кож вен бол* 2004; (6): 60—63.]
- Baker-Zander S.A., Roddy R.E., Handsfield H.H., Lukehart S.A. IgG and IgM antibody reactivity to antigens of *Treponema pallidum* after treatment of syphilis. *Sex Transm Dis* 1986; 13: 214—220.
- O'Neill P., Nicol C.S. IgM class antitreponemal antibody in treated and untreated syphilis. *Brit J Vener Dis* 1972; 48: 460—463.
- Wilkinson A.E., Rodiv P. IgM-FTA test in treated in adults: its relation to clinical findings. *Brit J Venereal Dis* 1976; 52: 219—223.
- Merlin S., Andre J., Alacoque B., Paris-Hamelin A. Importance of specific IgM antibodies in 116 patients with various stages of syphilis. *Genitourin Med* 1985; 61 (2): 82—87.
- Ininaga M., Sasaki E. Clinical survey of syphilis at the Dermatological Clinic of Nippon Medical School Hospital from 1984 to 1988, with special reference to the recent clinical manifestation and evaluation of IgM antibodies to *Treponema pallidum*. *J Dermatol* 1990; 17 (10): 618—629.
- Muller F., Moskophidis M. Evaluation of an enzyme immunoassay for IgM antibodies to *Treponema pallidum* in syphilis in man. *Brit J vener Dis* 1984; 60: 288—292.
- Egglestone S.I., Turner A.J.L. Serological diagnosis of syphilis. *Commun Dis Public Health* 2000; 3: 158—162.
- Castro R., Prieto E.S., Santo I. et al. Evaluation of enzyme immunoassay technique for detection antibodies against *Treponema pallidum*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 250—253.
- McMillan A., Young H. Qualitative and quantitative aspects of serologic diagnosis of syphilis. *Int J STD AIDS* 2008; 19: 620—624.
- Metodicheskie ukazaniya № 98/273 «Лечение и профилактика сифилиса». М.: Минздрав России, 1999. 20. [Методические указания № 98/273 «Лечение и профилактика сифилиса». М.: Минздрав России, 1999. 20.]
- Kubanova A.A. (red.) *Dermatovenerologija*, 2010: *Klinicheskie rekomendacii*. 4-e izd., pererabotannoe i dopolnennoe. M: Izd. DEKS-Press, 2010: 347—386. [Кубанова А.А. (ред.) *Дерматовенерология*, 2010: *Клинические рекомендации*. 4-е изд., перераб и доп. М: ДЕК-ПРЕСС, 2010: 347—386.]
- Kubanova A.A. (red.) *Klinicheskie rekomendacii po vedeniju bol'nyh infekcijami, peredavaemymi polovym putem, i urogenital'nymi infekcijami*. (Rossijskoe obshhestvo dermatovenerologov i kosmetologov). M: Izd. dom «DELOVOJ JekSPRESS», 2012: 34—68. [Кубанова А.А. (ред.) *Клинические рекомендации по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями*. (Российское общество дерматовенерологов и косметологов). М: Деловой экспресс, 2012: 34—68.]

об авторах:

С.В. Ротанов — д.м.н., доцент, врач клинической лабораторной диагностики ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, профессор кафедры дерматовенерологии лечебного факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва
 Ф.А. Эрматова — аспирант кафедры дерматовенерологии лечебного факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье