

Вивчення діагностичної ефективності експериментального антигену для постановки тесту швидких плазмових реактивів (RPR) для діагностики сифілісу

Н.М. Іванова, В.В. Кутова, О.М. Білоконь
ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Резюме

Розроблено та проведено вивчення діагностичної ефективності експериментального антигену з суданом чорним для постановки тесту визначення швидких плазмових реактивів (RPR) для діагностики сифілісу, що дасть змогу уникнути хибнопозитивних та хибнонегативних результатів та збільшити відсоток виявлення сифілісу.

Ключові слова: сифіліс, тест-система RPR, антиген.

Вступ

Захворюваність на інфекції, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), є основною соціальною та медичною проблемою, яка обумовлена значним інфікуванням молодих людей. Тяжкі наслідки сифілітичної інфекції та її вплив на соматичне і репродуктивне здоров'я хворих, можливість вертикальної передачі інфекції від матері плоду ставить дану інфекцію на передній план діяльності медичних закладів усіх рівнів надання медичної допомоги населенню України в умовах надзвичайного стану.

В рамках заходів, направлених на запобігання розповсюдженості даної інфекції, зусилля повинні бути зосереджені на ранній діагностиці та лікуванні пацієнтів з симптомами або без симптомів захворювання. Ці підходи потребують масового рутинного скринінгу з використанням чутливих, специфічних тестів, які широко застосовують у лабораторній практиці [1, 3, 5].

Протягом десятків років серологічні нетрепонемні тести – реакція мікропреципітації (РМП) та реакція зв'язування комплементу з кардіоліпіновим антигеном (РЗКк) – продовжують відігравати важливу роль при скринінговій діагностиці сифілісу. Основними показаннями до застосування нетрепонемних методів є: проведення первинного скринінгового обстеження населення, встановлення діагнозу, діагностика прихованих форм сифілісу, обстеження донорів, моніторинг ефективності лікування шляхом визначення титру нетрепонемних

антитіл [2]. Проте наявність хибнопозитивних та хибнонегативних результатів, складність громіздкої та довготривалої постановки РЗКк суттєво обмежують використання вказаної реакції в сучасний період.

У практиці світової медицини серед нетрепонемних тестів перше місце посідає швидкий плазмореактивний тест RPR – аналог РМП. Він є найбільш стандартизованим відбірковим скринінговим методом при серодіагностиці сифілісу при різних формах патології. Антифосфоліпідні антитіла до ліпоїдного і ліпопротеїноподібного матеріалу, що виявляються за допомогою цього тесту, знаходять у 70–80 % осіб з первинним сифілісом і майже у 100 % пацієнтів з вторинним і раннім латентним сифілісом [1, 7]. На жаль, в Україні відсутня розробка та виробництво вітчизняних тест-систем, які б за своїми якостями нагадували швидкий плазмореактивний RPR-тест та які були б необхідні для заміни РЗКк.

Метою нашого дослідження було вивчення діагностичної ефективності розробленого нами експериментального антигену з суданом для постановки RPR-тесту з використанням згаданих вище методів.

Матеріали та методи дослідження

У роботі були використані: набір реагентів «LUES-ТЕСТ для определения ассоциированных с сифилисом реактивных антител» (НПО «Диагностические системы», Россия); антиген кардіоліпіновий для

постановки методу РМП (ПАО «Фармстандарт-Біолік», Україна); антиген кардіоліпіновий для РЗКк, сухий комплемент, сироватка гемолітична діагностична (ПАТ «Фармстандарт-Біолік», Україна); фарбник судан (Росія), високотитражні позитивні, слабкопозитивні й негативні сироватки від пацієнтів з діагнозом сифілісу.

Результати та їх обговорення

RPR – це швидкий плазмореагіновий скринінговий метод, що дає змогу бачити результат тестування неозброєним оком. Принцип постановки методу наступний: плазмові реагени, антитіла, спрямовані проти антигенів нетрепонемного походження, агрегують з антигенами і спричиняють коагуляцію вугільних преципітинів або пофарбованих суданом часток преципітинів, інакше кажучи, кардіоліпіновий реагент взаємодіє з наявними в сироватці крові хворого на сифіліс реагенами з утворенням агрегатів у вигляді пластівців, що легко візуалізуються [4, 6].

Для приготування експериментального антигену для постановки методу RPR в нашому дослідженні ми взяли комерційний антиген кардіоліпіновий ПАТ «Фармстандарт-Біолік» для постановки РМП, фарбник судан, стабілізатор, консервант, 0,9 % розчин NaCl.

Порівняльне вивчення ефективності отриманого експериментального антигену з суданом для постановки методу RPR проведено в реакціях РМП, РЗКк та комерційною тест-системою «LUES-ТЕСТ для определения ассоциированных с сифилисом реакиновых антител» за методом RPR. Для перевірки активності розробленого експериментального антигену з суданом були використані позитивні, слабкопозитивні й негативні сироватки для діагностики та визначення титру реагенових антигел від пацієнтів з діагнозом сифілісу (див. таблицю).

Сироватку крові отримували з використанням стандартного методу від хворих з різними формами сифілісу. В постановку брали інактивовану сироватку.

Реакцію RPR проводили на поверхні тест-карток або в лунках пластини з плексигласу шляхом наступного внесення 50 мкл сироватки, що досліджується, та 16 мкл гомогенної суспензії експериментального антигену з суданом. Постановка методів РМП, РЗКк та «LUES-ТЕСТ» проводили згідно з інструкцією виробника.

Згідно з інструкцією, попередньо перед аналізом зразків проводилась реакція з контролями: з позитивним контрольним зразком (K+) та фізіологічним розчином – контроль антигену (КА).

Як впливає з наведених даних, використання розробленого експериментального антигену з суданом у постановці за методом RPR було більш ефективним у порівнянні з РМП та РЗКк. Так, отримано більше позитивних результатів за методом RPR з використанням експериментального антигену з суданом при титруванні сироваток, як позитивних (n = 15 (титр 1:8) на - 3+), так і слабкопозитивних (n = 15 - 2+), тоді як за методами РМП та РЗКк, відповідно, позитивні сироватки – n = 15 (титр 1:4) на - 3+, слабкопозитивні – n = 12 - 2+, а в 3 випадках преципітат не діагностувався. Водночас використання комерційного «LUES-ТЕСТ» за методом RPR в паралельній постановці повною мірою підтвердило титр, який був оцінено на 3+ та 1+ відповідно до сироваток, але з меншим утворенням видимих пофарбованих преципітатів.

На противагу методам РМП, РЗКк реакція RPR з розробленим експериментальним антигеном дає змогу бачити результат тестування неозброєним оком, тому що містить барвник, і при обліку результатів титрації сироватки хворих не має необхідності ні в мікроскопі, ні в збільшувальному склі. Визначення титру антигел у сироватках хворих за допомогою експериментального антигену RPR займає мало часу для дослідження, тому що він являє собою готову водну суспензію, яка дає можливість титрувати сироватки і визначати наявність антигел без попередньої підготовки інгредієнтів.

Крім того, термін збереження кардіоліпінового антигену для постановки РМП, РЗКк після приготування емульсії становить лише один тиждень, у той час як експериментальний антиген для RPR можна зберігати протягом 2 років. Такий склад антигену дає змогу збільшити його строк зберігання, проводити тестування неозброєним оком з найбільш достовірним результатом та виключає ймовірність помилок.

Висновки

Дослідження показали, що розроблений вітчизняний експериментальний антиген для RPR не лише не відрізняється за показниками з порівняльною системою «LUES-ТЕСТ», а навіть в деяких випадках

Порівняльні дані використання антигенів в RPR				Таблиця
Найменування методів діагностики	Позитивна сироватка (n = 15)	Слабкопозитивна сироватка (n = 15)	Негативна сироватка (n = 15)	Фізіологічний розчин (КА)
Експериментальний антиген з суданом для RPR	n = 15 титр 1:8 - 3+	n = 15 - 2+	0	0
РМП з кардіоліпіновим антигеном	n = 15 титр 1:4 - 3+	n = 12 - 2+; n = 3 - 0	0	0
РЗКк з кардіоліпіновим антигеном	n = 15 титр 1:4 - 3+	n = 12 - 2+; n = 3 - 0	0	0
«LUES-ТЕСТ для определения ассоциированных с сифилисом реакиновых антител»	n = 15 титр 1:4 - 3+	n = 15 - 1+	0	0

перевищує її. Отриманий антиген давав гарні пофарбовані преципітати при титрації позитивних сироваток, у той час як комерційний антиген утворював меншу кількість видимих преципітатів антиген–антитіло. Техніка постановки методу RPR з експериментальним антигеном в низці випадків дає змогу уникнути

проявів феномену «прозони» для слабкопозитивних сироваток.

Випуск вітчизняного експериментального антигену для постановки методу RPR полегшить візуальний облік результатів, що дасть можливість застосовувати його на різних рівнях надання медичної допомоги населенню.

Список літератури

1. Марданлы С.Г. Лабораторная диагностика сифилиса. Информационно-методическое пособие [Текст] / С.Г. Марданлы, Г.А. Дмитриев. – Электрогорск, 2011 – 24 с.
2. Роль нетрепонемних лабораторних методів дослідження у діагностиці сифілітичної інфекції [Текст] / В.В. Кутова, О.М. Білоконь, І.М. Нікітенко, Н.М. Іванова // Дерматологія та венерологія. – 2016. – № 2 (72). – С. 34-39.
3. Сучасні можливості серологічної діагностики сифілісу (порівняльний аналіз) [Текст] / О.І. Літус, В.В. Кутова, О.М. Білоконь [та ін.] // Дерматологія та венерологія. – 2013. – № 4 (62). – С. 34-43.
4. Тест быстрых плазменных реагинов РПР (RPR) в серологической диагностике сифилиса [Текст] / В.В. Кутова, Ю.В. Щербакова, О.Н. Белоконов, И.Н. Никитенко // Научно-медицинский журнал. – 2015. – № 10. – С. 96.
5. Щербакова Ю.В. Современные подходы к лабораторной диагностике сифилиса [Текст] / Ю.В. Щербакова, В.В. Кутова // Научно-медицинский журнал. – 2015. – № 10. – С. 75-79.
6. Comparison of a new rapid plasma reagin card test with the standard rapid plasma reagin 18 - mm circle card test and the venereal disease research laboratory slide test for serodiagnosis of syphilis [Text] / EA Hambie, SA Larsen, MW Perryman et al. // Journal of Clinical Microbiology. – 1983. – № 17 (2). – P. 249-54.
7. Ledger W.J. Syphilis in pregnancy [Text] / W.J. Ledger // Sexually Transmitted Infections. – 2000. – 76 (2). – P. 73-79.

References

1. Mardany SG, Dmitriev GA. Laboratornej diagnostica sifilisa (Laboratory diagnosis of syphilis). Informacionno-metodicheskoe posobie. Electrogorsk; 2011. P. 24.
2. Kutova VV, Bilokon OM, Nikitenko IM, Ivanova NM. Rol netreponemnih laboratornih metodiv doslidjennia u diagnostiki sifilistichnoi infekcii (The role of non-treponems of laboratory methods of research is in diagnostics of syphilitic infection). Dermatology and venereology. 2016;2(72):34-39.
3. Litus OI, Kutova VV, Bilokon OM, et al. Suchasni mozhlyvosti serologichnoi diagnostiki sifilisu (porivnialnii analiz) (Modern diagnostics of the syphilis). Dermatology and venereology. 2013;4(62):34-43.
4. Kutova VV, Shcherbakova YuV, Bilokon OM, Nikitenko IN. Test bistrikh plazmenikh reaginov RPR v serologicheski diagnostike sifilisa (Test rapid plasma reaginov RPR in the serological diagnosis of syphilis). Nauchno-medicinskij jurnal. 2015;10:96.
5. Shcherbakova YuV, Kutova VV. Sovremennie podkhodi k laboratornoi diagnostike sifilisa (Modern approaches to laboratory diagnosis of syphilis). Nauchno-medicinskij jurnal. 2015;10:75-79.
6. Hambie EA, Larsen SA, Perryman MW, Pettit DE, Mullally RL, Whittington W. Comparison of a new rapid plasma reagin card test with the standard rapid plasma reagin 18 - mm circle card test and the venereal disease research laboratory slide test for serodiagnosis of syphilis. Journal of Clinical Microbiology. 1983;17(2):249-54.
7. Ledger WJ. Syphilis in pregnancy. Sexually Transmitted Infections. 2000;76(2):73-79.

ИЗУЧЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АНТИГЕНА ДЛЯ ПОСТАНОВКИ МЕТОДА БЫСТРЫХ ПЛАЗМЕННЫХ РЕАГИНОВ (RPR) ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА

Н.Н. Иванова, В.В. Кутова, О.Н. Белоконов

ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»

Резюме

Проведено изучение диагностической эффективности экспериментального антигена с суданом черным для постановки теста определения быстрых плазменных реагинов РПР (RPR) для диагностики сифилиса, который позволит избежать ложноположительных и ложноотрицательных результатов и увеличит процент выявления сифилиса.

Ключевые слова: сифилис, тест-система РПР (RPR), антиген.

STUDYING OF DIAGNOSTIC EFFICIENCY OF THE EXPERIMENTAL ANTIGENE FOR STATEMENT OF THE METHOD FAST PLASMA REAGINES RPR FOR DIAGNOSTICS OF THE SYPHILIS

N.N. Ivanova, V.V. Kutova, O.N. Bilokon

SE «Institute of dermatology and venereology of NAMS of Ukraine»

Abstract

The study of diagnostic efficiency of experimental antigen is conducted with black sudan for the test of determination rapid plasma reagines (RPR) for diagnostics of syphilis. This antigen for diagnostics of syphilis will allow to avoid false-positive and false-negative results and to increase percent of exposure of a syphilis.

Key words: a syphilis, test-system RPR, antigen.

Відомості про авторів:

Іванова Ніна Миколаївна – канд. хім. наук, провідний наук. співроб. лаб. імунології, патоморфології та молекулярної генетики ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»; e-mail: ivannina62@mail.ru

Кутова Валентина Васильевна – канд. мед. наук, ст. наук. співроб., зав. лабораторії серології ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Білоконов Ольга Миколаївна – мол. наук. співроб. лаб. серології ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»