

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ, ОСНОВАННАЯ НА ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИММУНОЧИПА С РАСШИРЕННОЙ ПАНЕЛЬЮ АНТИГЕНОВ *TREPONEMA PALLIDUM*

© 2018 г. А. В. Рунина, Г. Л. Катунин, А. А. Кубанов, Д. Г. Дерябин*

*E-mail: dgderabin@yandex.ru

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии»
Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 29.06.2018. Принята: 28.08.2018

Целью исследования явилась оценка диагностической эффективности регламентированных лабораторных тестов и экспериментального иммуночипа в группах 20 ВИЧ-инфицированных и 54 ВИЧ-негативных пациентов с предварительно верифицированным диагнозом сифилиса. Регламентированные нетрепонемный (RPR) и трепонемные (РПГА, ИФА) тесты показали сопоставимую чувствительность (77,0–98,7%) вне зависимости от ВИЧ-статуса, но у четверти пациентов приводили к неоднозначному диагностическому результату. Использование экспериментального иммуночипа обеспечило 100% чувствительность выявления сифилиса, одновременно продемонстрировав парадоксальное усиление специфического иммунного ответа на антигены *T. pallidum* при ВИЧ-инфекции. Указанная особенность заключалась как в расширении спектров иммунореактивности исследуемых сывороток в отношении панели из 10 антигенов *T. pallidum*, так и более высокой интенсивности взаимодействия с индивидуальными рекомбинантными белками Tr15, Tr17, Tr47, TmpA (традиционно используются при лабораторной диагностике сифилиса), а также Tr0453, Tr0684 и Tr1038 (синтезированы *de novo* для расширенной панели иммуночипа). Результаты исследования на иммуночипе хорошо согласовывались с данными регламентированных лабораторных тестов, одновременно уточняя их в случаях неоднозначного сочетания нетрепонемных и трепонемных реакций.

Ключевые слова: сифилис, ВИЧ-инфекция, серологическая диагностика, *Treponema pallidum*, диагностические антигены, иммуночип

DOI: 10.31857/S102872210002377-9

Адрес: 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6, Дерябин Дмитрий Геннадьевич. Тел.: + 8(903)2213963 (моб.).

E-mail: dgderabin@yandex.ru.

Авторы:

Рунина А. В., научный сотрудник ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России, Москва, Россия;

Катунин Г. Л., к. м. н., врач клинко-диагностического центра ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России, Москва, Россия;

Кубанов А. А., д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России; заведующий кафедрой дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;

Дерябин Д. Г., д. м. н., профессор, заведующий отделом лабораторной диагностики ИППП и дерматозов ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России, Москва, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Сифилис – инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*), и ВИЧ-инфекция, вызываемая вирусом иммунодефицита человека (*Human immunodeficiency virus*), имеют принципиально различные этиологию и патогенез, но общие пути передачи – половой, гемотрансфузионный и трансплацентарный [1]. Вследствие этого эпидемии сифилиса и ВИЧ-инфекции оказываются тесно взаимосвязанными, поражая одни и те же группы повышенного поведенческого риска: гомо- и бисексуальных мужчин, секс-работников, потребителей инъекционных наркотиков [2]. Кроме того, при сочетании названных инфекций клиническое течение каждой из них становится более агрессивным [3]. Отдельный аспект

данной проблемы связан с диагностикой сифилиса при смешанной инфекции, что определяется возможностью отсроченного развития серологических реакций или их негативации на фоне ВИЧ-индуцированной иммуносупрессии [4, 5].

Указанные обстоятельства определяют необходимость анализа эффективности традиционных нетрепонемных и трепонемных серологических тестов, рекомендуемых для диагностики сифилиса при ВИЧ-инфекции [6], а также делают актуальной разработку нового поколения тест-систем, ориентированных на комплексное выявление данных заболеваний [7]. Одним из перспективных направлений подобного поиска является создание белковых чипов (иммуночипов), представляющих собой микроматрицы с упорядоченно расположенными молекулярными зондами и использующих принцип реакции непрямой иммунофлуоресценции для выявления антител к диагностически значимым антигенам вирусов и бактерий [8]. Известными примерами являются экспериментальные иммуночипы, разрабатываемые в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора [9] и Государственном научном центре дерматовенерологии и косметологии Минздрава России [10], однако опыт их использования для выявления сифилиса при ВИЧ-инфекции до настоящего времени отсутствует.

Цель работы: проведение серологической диагностики сифилиса у ВИЧ-инфицированных пациентов с использованием иммуночипа, включающего расширенную панель антигенов *Treponema pallidum*, а также сопоставление полученных результатов с данными рутинных нетрепонемных и трепонемных тестов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 20 пациентов с подтвержденными диагнозами сифилиса и ВИЧ-инфекции, находящихся на учете в Московском городском центре профилактики и борьбы со СПИД. В соответствии с возрастным (23–54 года) и половым (мужчины) составом данной группы для неё была сформирована соответствующая группа сравнения, включающая 54 пациента с клинически верифицированным диагнозом сифилиса при отрицательных результатах анализа на ВИЧ-инфекцию. В сравниваемых группах преобладали ранние (вторичный и ранний скрытый) формы сифилиса.

Пробы венозной крови от данных лиц забирали в вакуумные пробирки 367955-BD Vacutainer с активатором свертывания (Becton Dickinson,

Великобритания), после чего центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин.

Серологическое исследование на сифилис в обозначенных выше группах было проведено с использованием регламентированных нетрепонемных и трепонемных тестов [6], а также экспериментального иммуночипа с расширенной панелью диагностических антигенов *Treponema pallidum* [10].

Нетрепонемный флукуляционный тест, направленный на выявление антикардиолипидных антител, выполнен в варианте RPR-теста (от англ. – Rapid Plasma Reagin) с использованием набора реактивов производства ЗАО «Эколаб» (Электрогорск, Россия). В свою очередь трепонемные тесты, идентифицирующие специфические антитела к иммунодоминантным антигенам *T. pallidum*, были выполнены в вариантах реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) с использованием комплекта реагентов «Сифилис-РПГА-тест» (ЗАО «Эколаб», Электрогорск, Россия), а также набора реагентов «РекомбиБест антипаллидум – суммарные антитела» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия), основанного на технологии иммуноферментного анализа (ИФА).

Профиль иммунореактивности исследуемых сывороток в отношении 10 видоспецифичных антигенов *T. pallidum*, представленных коммерчески доступными препаратами Tr15, Tr17, Tr47, TrpA (ЗАО «Эколаб», Электрогорск, Россия) и полученными *de novo* рекомбинантными белками Tr0277, Tr0319, Tr0453, Tr0684, Tr0965, Tr1038, проанализирован в реакции непрямой иммунофлуоресценции на поверхности экспериментального иммуночипа, схема которого приведена на **рис. 1**.

Исследуемые сыворотки разводили 1:10 в 50 мМ фосфатном буфере с 0,05% Tween-20, вносили в инкубационную камеру иммуночипа и выдерживали в течение 12 ч при 37 °С для формирования комплексов «антиген-антитело». Далее камеру снимали, иммуночип промывали деионизированной водой, после чего несвязанные антитела удаляли в ходе инкубации в промывочном фосфатном буфере с 0,05% Tween-20 в течение 30 минут при 200 об/мин на ротационном шейкере и повторно промывали. Для выявления комплексов «антиген-антитело» на рабочую поверхность иммуночипа наносили антитела к Fc-фрагменту иммуноглобулина человека, конъюгированные с флуоресцентным красителем Cy5 (Sigma Aldrich, США), инкубировали в те-

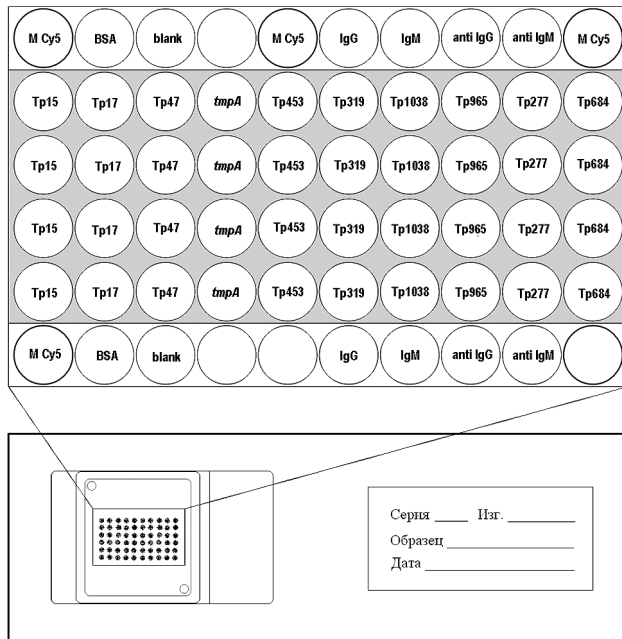


Рис. 1. Принципиальная схема иммуночипа с расширенной панелью антигенов *Tr pallidum*.

Снизу – общий вид иммуночипа; сверху – схема нанесения рекомбинантных белков *Tr pallidum* и контрольных материалов на рабочую поверхность иммуночипа.

чение 1 ч при 37 °С, после чего иммуночип промывали деионизированной водой и высушивали в потоке воздуха. Считывание флуоресцентного сигнала (возбуждение при 650 нм, детекция при 670 нм) выполняли с использованием универсального аппаратно-программного комплекса для анализа биочипов (БИОЧИП-ИМБ, Москва, Россия), усредняя результат от четырех ячеек с одним и тем же антигеном. Пороговый

уровень флуоресценции ($\Phi L_{\text{порог}}$) для каждого использованного антигена определяли на основе реакции с образцами сывороток крови здоровых доноров с поправкой +3 σ (квадратическое отклонение для данной выборки). В дальнейшем «положительными» считались значения флуоресценции, превышающие $\Phi L_{\text{порог}}$ более чем на 10%; «отрицательными» – составляющие менее 90% от $\Phi L_{\text{порог}}$, а значения $\pm 10\%$ от $\Phi L_{\text{порог}}$ расценивались как сомнительные («серая зона» диагностического исследования).

Оценку результатов исследования проводили с использованием программного обеспечения AtteStat по критерию Манна-Уитни для непарных выборок с поправкой на множественное сравнение. В качестве порогового значения статистически значимых отличий принимали $p < 0,05$. Для сравнения результатов регламентированных лабораторных исследований и данных, полученных на иммуночипе, произведен расчет коэффициента корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Использование нетрепемного RPR-теста позволило зафиксировать высокие показатели реактивности (положительная реакция в титре 1:8 и выше) для 57,5% сывороток от пациентов с сифилисом и 70,0% сывороток от пациентов с сифилисом и ВИЧ-инфекцией. Еще 28,5% и 10,0% сывороток, соответственно, вызывали флокуляцию фосфолипидного антигена в титрах от 1:2 до 1:4. Отрицательные результаты RPR-теста установлены у 24,1% больных сифилисом и 20,0% пациентов с сочетанной ВИЧ-инфекцией (**рис. 2а**). При этом анализ распре-

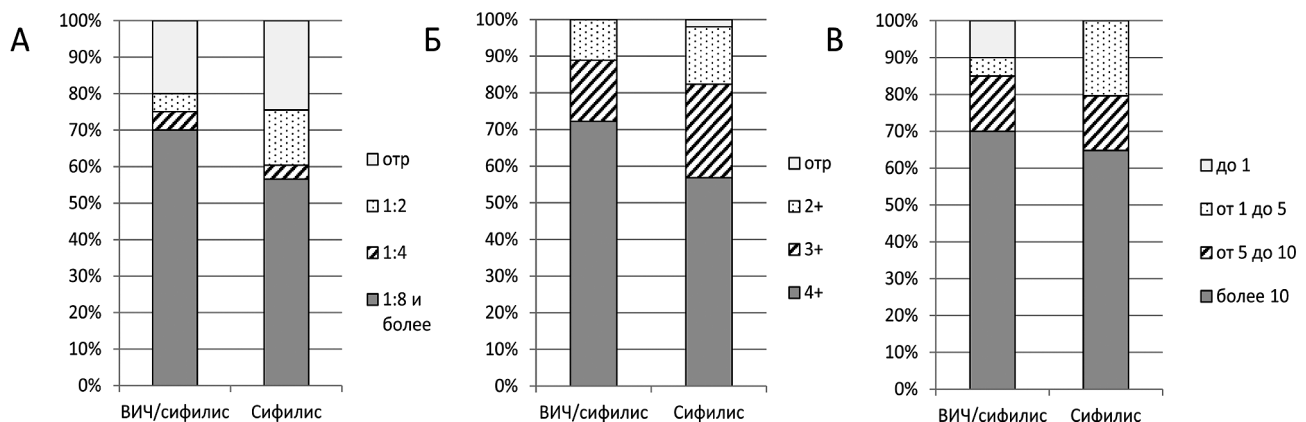


Рис. 2. Результаты регламентированных лабораторных тестов (а – RPR; б – РПГА; в – ИФА) в группе больных сифилисом и пациентов с сочетанной ВИЧ-инфекцией. По оси ординат – доля сывороток (%) с определенными градациями результата серологической реакции.

деления результатов в сравниваемых группах не показал между ними статистически значимых различий ($p=2,94$), а интегральная оценка чувствительности метода характеризовала его величиной 77,0%.

Трепонемный РПГА-тест давал положительный результат со всеми сыворотками пациентов с ко-инфекцией при наиболее частой регистрации резко положительной реакции 4+ (в 65,0% случаев), тогда как на долю положительных 3+ и слабоположительных 2+ сывороток приходилось 25,0% и 10,0%, соответственно (рис. 2б). Сходное распределение с преобладанием резко положительной реакции (в 53,7% случаев) было показано и среди больных сифилисом, однако 1 из 54 исследованных сывороток в данной группе была определена как «отрицательная». Статистически значимые различия в распределении результатов РПГА в сравниваемых группах отсутствовали ($p=2,37$); интегральная чувствительность метода составила 98,7%.

Иммуноферментный анализ в группе больных сифилисом позволил оценить все исследованные сыворотки как «положительные», среди которых в 64,8% случаев пороговое значение оптической плотности ($ОП_{крит}$) было превышено в 10 и более раз. В свою очередь при исследовании сывороток от пациентов с сифилисом и ВИЧ-инфекцией подобный выраженный результат ИФА также регистрировался наиболее часто (в 70,0% случаев), однако анализ 2 из 20 сывороток оценивал их как «отрицательные» (рис. 2в). В целом чувствительность метода составила 97,3%; статистически значимые различия между группами больных сифилисом

и пациентов с сочетанной ВИЧ-инфекцией вновь отсутствовали ($p = 8,63$).

Таким образом, использование регламентированных серологических методов позволило констатировать их сопоставимую эффективность для диагностики сифилиса как при моноинфекции, так и при ко-инфекции. Однако, получаемые при этом результаты в 24,3% случаев оказывались неоднозначными (в том числе у 13 из 54 больных сифилисом и 5 из 20 пациентов с сифилисом и ВИЧ-инфекцией), будучи представленными различными сочетаниями положительных и отрицательных результатов нетрепонемных и трепонемных тестов. Указанное обстоятельство определило необходимость проведения верифицирующего исследования, в качестве которого была использована реакция непрямой иммунофлуоресценции на экспериментальном иммуночипе.

Его использование в 100% случаев позволило зарегистрировать иммунореактивность исследуемых сывороток крови, что свидетельствовало об абсолютной диагностической чувствительности предложенного подхода. При этом спектр иммунореактивности индивидуальных сывороток варьировал в широких пределах с превышением порогового уровня флуоресценции ($ФЛ_{порог}$) в отношении различных по численности спектров антигенов. Интересно, что анализ подобных распределений в группе больных сифилисом и у пациентов с сочетанной ВИЧ-инфекцией показал статистически значимое ($p<0,01$) повышение иммунореактивности сывороток последней группы. Так спектр реактивности сывороток больных сифилисом включал

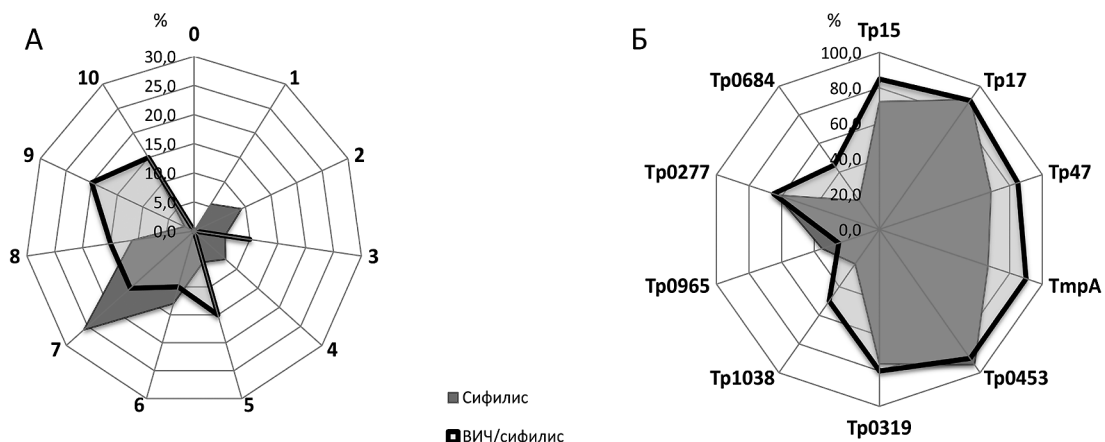


Рис. 3. Профили иммунореактивности сывороток крови больных сифилисом и пациентов с сочетанной ВИЧ-инфекцией при исследовании на иммуночипе: а – количество прореагировавших антигенов; б – средние значения иммунореактивности (ФЛ) каждого антигена.

Таблица. Сравнение результатов серологических реакций с использованием регламентированных лабораторных тестов и экспериментального иммуночипа

Группы пациентов (кол-во случаев)	Результаты регламентированных лабораторных тестов				Результаты исследования на иммуночипе (кол-во прореагировавших антигенов)				
	RPR	РПГА	ИФА		1–2	3–4	5–6	7–8	9–10
Сифилис (n=54)	+	+	+	n=41	4	4	7	18	8
	–	+	+	n=12	4	2	3	2	1
	–	–	+	n=1	0	1	0	0	0
ВИЧ/ сифилис (n=20)	+	+	+	n=15	0	0	3	5	7
	–	+	+	n=3	0	0	2	1	0
	+	–	–	n=1	0	1	0	0	0
	–	+	–	n=1	0	1	0	0	0

от 1 до 10 антигенов, а наиболее частым вариантом было взаимодействие с 7 антигенами (25,9% от всех результатов в данной группе). В свою очередь в группе пациентов с сочетанной ВИЧ-инфекцией реакция происходила не менее чем с 3 антигенами, а спектр иммунореактивности 90% исследованных сывороток включал 5–10 антигенов (рис. 3а).

Оценка интенсивности взаимодействия сывороток сравниваемых групп с отдельными антигенами *T. pallidum*, охарактеризованная величиной флуоресцентного сигнала комплексов «антиген-антитело» с рабочей поверхности иммуночипа, также указывала на более высокую выраженность иммунного ответа при ко-инфекции (рис. 3б). При этом статистически значимое увеличение иммунореактивности сывороток крови пациентов с сифилисом и ВИЧ-инфекцией показано в отношении антигенов Tr15, Tr17, Tr0453, Tr0684 ($p < 0,05$), а особенно – в отношении Tr47 ($p < 0,01$), TmpA ($p < 0,001$) и Tr1038 ($p < 0,01$).

В целом же сравнение градаций результата исследования на иммуночипе с данными регламентированных трепонемных тестов РПГА и ИФА позволило констатировать между ними умеренную степень сходимости (коэффициенты корреляции 0,53 и 0,51, соответственно), вероятно определяемую общностью некоторых антигенов *T. pallidum*, используемых при постановке данных серологических реакций. С другой стороны, взаимосвязь результатов исследования на иммуночипе и выраженности RPR-теста оценивалась как слабая (коэффициент корреляции 0,21), что свидетельствовало об относительной независимости трепонемных и нетрепонемных тестов

при диагностике сифилиса как следствия различной специфичности выявляемых антител.

Интегральная оценка исследований с использованием регламентированных тестов и иммуночипа показала возможность использования последнего для верификации диагноза сифилиса, в том числе при неоднозначных результатах нетрепонемного и трепонемных тестов (таб.). Так три сыворотки от пациентов со скрытыми формами сифилиса и сопутствующей ВИЧ-инфекцией, давшие отрицательный результат RPR-теста при положительных результатах РПГА и ИФА, продемонстрировали реактивность с 5–7 антигенами, в том числе несколькими традиционно используемыми в серодиагностике сифилиса иммунодоминантными антигенами, а также новыми рекомбинантными белками Tr0453/Tr0684 или Tr0453/Tr1038 или Tr0319/Tr0453/Tr0684. Кроме того, две сыворотки с противоречивыми результатами регламентированных тестов (RPR-/РПГА+/ИФА- и RPR+/РПГА-/ИФА-), полученные от пациентов с первичным сифилисом и сопутствующей ВИЧ-инфекцией, в результате исследования на иммуночипе были оценены как положительные на основе реакции с тремя антигенами *T. pallidum* каждая. При этом следует отметить, что иммунный ответ был зафиксирован исключительно в отношении полученных *de novo* рекомбинантных белков: Tr319/Tr453/Tr0965 или Tr0453/Tr0684/Tr1038.

Кроме того, использование данного подхода было полезным при верификации диагноза у 12 больных сифилисом с сочетанием отрицательного результата нетрепонемного RPR-теста и положительными трепонемными РПГА и ИФА тестами, а также большого поздним скрытым си-

филисом с противоречивым диагностическим результатом RPR-/РПГА-/ИФА+, сыворотка крови которого при исследовании на иммуночипе продемонстрировала реактивность с 4 антигенами *T. pallidum* (табл.), в том числе иммунодоминантными Tr15, Tr17, Tr47, TmpA, а также полученным *de novo* рекомбинантным белком Tr0453.

ОБСУЖДЕНИЕ

Совокупность полученных результатов позволила констатировать сходную эффективность регламентированных лабораторных серологических тестов при выявлении сифилиса у ВИЧ-негативных и ВИЧ-инфицированных пациентов, что соответствует современным представлениям о возможности решения этой задачи на основе одних и тех же лабораторных алгоритмов [11, 12]. Однако, существующие нетрепонемные и трепонемные тесты обеспечили непротиворечивый результат только у 75,7% пациентов независимо от их ВИЧ-статуса, что диктует необходимость совершенствования методов и подходов к исследованию иммунного ответа при сифилисе.

Предложенным решением стало использование экспериментального иммуночипа, использующего принцип непрямой иммунофлуоресценции для обнаружения специфических антител к 10 рекомбинантным белкам *T. pallidum* [10]. По своей сути данный лабораторный тест наиболее близок к иммуноблотингу, поскольку оценивает не суммарные антитела, но профили их реактивности к отдельным антигенам возбудителя сифилиса. Вместе с тем реализованный в иммуночипе принцип детекции комплексов «антиген-антитело» делает подобный результат количественным, а использование расширенной панели диагностических антигенов *T. pallidum* доводит диагностическую чувствительность метода до наивысшего 100% уровня.

Параллельное использование иммуночипа в группах ВИЧ-негативных и ВИЧ-позитивных пациентов позволило зафиксировать у последних парадоксальное повышение интенсивности иммунного ответа, заключающееся как в расширении спектров иммунореактивности в отношении панели антигенов *T. pallidum*, так и более высокую интенсивность взаимодействия с большинством индивидуальных антигенов. Следует отметить, что повышенная серореактивность при сочетании сифилиса с ВИЧ-инфекцией описывалась и ранее [13]. Однако, отсутствие в распоряжении авторов статьи сведений о де-

тализированном ВИЧ-статусе обследованных пациентов (содержании CD4 лимфоцитов в периферической крови; вирусной нагрузке и т.д.), пока оставляет этот факт без возможных объяснений и определяет необходимость продолжения исследований в заданном направлении.

В целом же использование иммуночипа позволило получить непротиворечивый результат с регламентированными лабораторными тестами, одновременно уточнив их результат в случаях неоднозначного сочетания нетрепонемных и трепонемных реакций. При этом важным условием для этого представляется использование расширенной панели антигенов *T. pallidum*, выявляющей антитела, профиль специфичности которых обеспечивает выявление как ранних, так и поздних скрытых форм сифилиса [14]. Указанное обстоятельство определяет актуальность завершения разработки и скорейшей сертификации представленного иммуночипа, решающего задачу высокочувствительной серологической диагностики данного заболевания, в том числе при его сочетании с ВИЧ-инфекцией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Karp G., Schlaefter F., Jotkowitz A., Riesenberg K. Syphilis and HIV co-infection. Eur. J. Intern. Med. 2009, 20(1), 9–13.
2. Lynn W.A., Lightman S. Syphilis and HIV: a dangerous combination. Lancet Infect. Dis. 2004, 4(7), 456–466.
3. Pialoux G., Vimont S., Moulignier A., Buteux M., Abraham B., Bonnard P. Effect of HIV infection on the course of syphilis. AIDS Rev. 2008, 10(2), 85–92.
4. Malone J. L., Wallace M. R., Hendrick B. B., LaRocco A. Jr., Tonon E., Brodine S. K., Bowler W. A., Lavin B. S., Hawkins R. E., Oldfield E. C. Syphilis and neurosyphilis in a human immunodeficiency virus type-1 seropositive population: evidence for frequent serologic relapse after therapy. Am. J. Med. 1995, 99 (1), 55–63.
5. Kingston A. A., Vujevich J., Shapiro M., Hivnor C. M., Jukic D. M., Junkins-Hopkins J. M., Jih D. M., Kostman J. R., James W. D. Seronegative secondary syphilis in 2 patients coinfecting with human immunodeficiency virus. Arch. Dermatol. 2005, 141(4), 431–433.
6. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных сифилисом. М., РОДВК, 2015.— 45 с. [Federal guidelines for the management of patients with syphilis. M., RODVK, 2015, 45 p.]
7. Bristow C. C., Leon S. R., Ramos L. B., Vargas S. K., Flores J. A., Konda K. A., Caceres C. F., Klausner J. D. Laboratory evaluation of a dual rapid immunodiagnostic test for HIV and syphilis infection. J. Clin. Microbiol. 2015, 53(1), 311–333.
8. Lee H. J., Wark A. W., Corn R. M. Microarray methods for protein biomarker detection. Analyst. 2008, 133(8), 975–983.

9. Смердова М. А., Маркелов М. Л., Гушчин А. Е., Судьина А. Е., Шишова А. В., Шипулин Г. А. Разработка экспериментальной тест-системы на основе иммуночипа для серодиагностики сифилиса. Журнал микробиол. эпидемиол. иммунобиол. 2008, 6, 54–58. [Smerdova M. A., Markelov M. L., Gushchin A. E., Sudyina A. E., Shishova A. V., Shipulin G. A. Development of experimental test-system on the basis of immunochip for syphilis serodiagnostics. Zh. Microbiol (Moscow). 2006, 6, 54–58.]
10. Рунина А. В., Катунин Г. Л., Филиппова М. А., Затевалов А. М., Кубанов А. А., Дерыбин Д. Г. Иммуночип для серологической диагностики сифилиса с использованием расширенной панели рекомбинантных антигенов *Treponema pallidum*. Бюлл. экспериментальной биол. мед. 2018, 165(6), 726–731. [Runina A. V., Katunin G. L., Filippova M. A., Zatevalov A. M., Kubanov A. A., Deryabin D. G. Immuno-chip for serological syphilis diagnostics based on extended panel of *Treponema pallidum* recombinant antigens. Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2018, 165(6), 726–731.]
11. Красносельских Т. В., Соколовский Е. В. Современные стандарты терапии сифилиса: сравнение российских и зарубежных клинических рекомендаций (сообщение II). Вестник дерматологии и венерологии 2015, 2, 23–40. [Krasnoselskikh T. V., Sokolovskiy E. V. Current standards for syphilis treatment: comparing the russian and foreign guidelines (part II). Vestnik Dermatologii i Venerologii 2015, 2, 23–40.]
12. Workowski K. A., Berman S. M. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. MMWR Recomm. Rep. 2006, 55, 1–94.
13. Hall C. S., Bolan G. Syphilis and HIV. HIV In Site, 2006. Available from <http://hivinsite.ucsf.edu/InSite?page=kb-05-01-04#S5X>
14. Kubanov A., Runina A., Deryabin D. Novel *Treponema pallidum* recombinant antigens for syphilis diagnostics: current status and future prospects. Biomed. Res. Int. 2017:1436080. doi: 10.1155/2017/1436080.

SEROLOGICAL DIAGNOSTICS OF SYPHILIS IN HIV-POSITIVE PATIENTS USING IMMUNE-MICROARRAY WITH EXPANDED PANEL OF *TREPONEMA PALLIDUM* ANTIGENS

© 2018 A. V. Runina, G. L. Katunin, A. A. Kubanov, D. G. Deryabin*

*E-mail: dgderabin@yandex.ru

State Scientific Centre of Dermatovenereology and Cosmetology,
Russian Ministry of Health, Moscow, Russia

Received: 29.06.2018. Accepted: 28.08.2018

This research estimated the diagnostic efficacy of standard laboratory tests and experimental immune-microarray assay in groups of HIV-positive (n=20) and HIV-negative (n=54) patients with verified syphilis diagnosis. The sensitivity of standard non-treponemal (rapid plasma reagin) and treponemal (passive hemagglutination test; enzyme immunoassay) tests was similar in studied groups (77,0–98,7%), but approximately one fourth of the samples gave discordant results. Application of experimental immune-microarray showed 100% sensitivity of syphilis diagnostics together and revealed the paradoxical increasing of specific immune response to *T. pallidum* antigens in HIV-positive patients. This phenomenon involved immunoreactivity pattern expansion in the immune-microarray with 10 recombinant antigens of *T. pallidum*, and also the increased reactivity to the individual recombinant antigens Tp15, Tp17, Tp47, TmpA (used in standard laboratory tests) and Tp0453, Tp0684 and Tp1038 (developed *de novo* for the designed assay). The diagnostic results in immune-microarray were consistent with the standard laboratory tests, and clarified them in the cases with discordant combinations of standard treponemal and nontreponemal tests' results.

Key words: syphilis, HIV, serological diagnostics, *Treponema pallidum*, diagnostic antigens, immune-microarray

Authors:

Runina A. V., research fellow, State Scientific Centre of Dermatovenereology and Cosmetology, Russian Ministry of Health, Moscow, Russia;

Katunin G. L., PhD, Head of Syphilidology Department, State Scientific Centre of Dermatovenereology and Cosmetology, Russian Ministry of Health, Moscow, Russia;

Kubanov A. A., M.D., Professor, corresponding member of RAS, Head of Dermatovenereology and Cosmetology Department, Russian Medical Academy of Post-Graduate Education, Moscow, Russia;

Deryabin D. G., ✉ M.D., Professor, Head of the Department of STD and Dermatoses Laboratory Diagnostics, State Scientific Centre of Dermatovenereology and Cosmetology, Russian Ministry of Health, Moscow, Russia;

107076, Moscow, Korolenko Str, 3/6. Phone: +7(903)221–39–63 (mob.); E-mail: dgderabin@yandex.ru.