

© Матыскина Н.В., Таранушенко Т.Е., 2015

Н.В. Матыскина, Т.Е. Таранушенко

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ РАННЕГО ВРОЖДЕННОГО СИФИЛИСА У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ», г. Красноярск, РФ

N.V. Matyskina, T.E. Taranushenko

MODERN POSSIBILITIES OF EARLY CONGENITAL SYPHILIS DIAGNOSTICS IN NEWBORNS

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Russia

Цель исследования – выделить наиболее значимые клинико-лабораторные показатели, позволяющие оптимизировать диагностику раннего врожденного сифилиса (РВС). Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 164 новорожденных детей, рожденных женщинами, которые перенесли сифилитическую инфекцию. Установлено, что диагностическая чувствительность ПЦР (процент положительных результатов у лиц с данной инфекцией) составила 76,9%; специфичность (процент отрицательных результатов у здоровых людей) – 100%. При общепризнанной 100%-специфичности метода ПЦР нами установлен невысокий показатель чувствительности, что свидетельствует о присутствии ложноотрицательных результатов. Диагностика сифилитической инфекции с выявлением антигена ДНК *Treponema pallidum* показала высокую специфичность и подтвердила необходимость комплексного подхода к обследованию групп риска и детей с РВС.

Ключевые слова: новорожденные дети, ранний врожденный сифилис, лабораторная диагностика.

Objective of the research – to identify most significant clinical and laboratory parameters, that allow to optimize diagnosis of early congenital syphilis (ECS). The study included a comprehensive clinical and laboratory examination of 164 newborns, born to women who had syphilis infection. The study found that PCR diagnostic sensitivity (percentage of positive results in patients with the infection) was 76,9%; specificity (percentage of negative results in healthy people) – 100%. With generally accepted 100% specificity of PCR method, researchers defined low sensitivity index, which indicates the presence of false-negative results. Diagnosis of syphilis infection, identifying antigen *Treponema pallidum* DNA showed high specificity and reaffirmed the need for a comprehensive approach to the examination of risk groups and children with ECS.

Keywords: newborns, early congenital syphilis, laboratory diagnostics.

Государственная политика Российской Федерации направлена на национальную безопас-

ность населения. Указ Президента Российской Федерации от 12.05.2009 № 537 определил

Контактная информация:

Матыскина Наталья Владимировна – к.м.н., асс. каф. поликлинической педиатрии и пропедевтики детских болезней с курсом ПО ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ

Адрес: Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1
Тел.: (391) 241-85-75, E-mail: mnv72@mail.ru

Статья поступила 4.02.15, принята к печати 23.09.15.

Contact Information:

Matyskina Natalia Vladimirovna – Ph.D., Assistant of Outpatient Pediatrics and Propaedeutics of childhood diseases Department, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

Address: Russia, 660022, Krasnoyarsk, Partizan Zheleznyaka str., 1
Tel.: (391) 241-85-75, E-mail: mnv72@mail.ru

Received on Feb. 4, 2015, submitted for publication on Sep. 23, 2015.

Стратегию национальной безопасности в сфере здравоохранения и здоровья нации до 2020 г., предусматривающую усиление профилактической направленности здравоохранения и охрану материнства, отцовства и детства. На фоне сложной демографической ситуации в России проблема социально значимых заболеваний, ухудшающих здоровье нации, в т.ч. врожденного сифилиса (ВС), остается весьма актуальной [1].

Совершенствование диагностики ВС имеет определенные проблемы (сложность и разнообразие признаков), с которыми сталкивается врач при рождении ребенка матерью, перенесшей сифилис. Как отмечают специалисты [2], выявление скрытого раннего ВС (РВС) представляет значительные трудности, заключающиеся как в гипердиагностике, так и в гиподиагностике врожденного заболевания. В связи с этим ведущими дерматовенерологами были предложены дополнительные критерии постановки диагноза ВС и определены оптимальные сроки решения вопроса о диагностике раннего врожденного скрытого сифилиса [1, 2].

Вместе с тем интенсивная миграция населения в современном мире выявила трудности в получении как документального подтверждения лечения матери, так и динамичного наблюдения за новорожденным. Это в свою очередь затрудняет диагностику заболевания вследствие большого количества пропущенных данных, важных для верификации диагноза новорожденного, и порождает сложности в интерпретации имеющихся сведений [2].

Для решения этой проблемы очевидной является перспективность использования современных диагностических технологий с учетом множества взаимосвязанных и взаимозависимых факторов (риска), участвующих в развитии заболевания [3–5].

Цель исследования – выделить наиболее значимые клинико-лабораторные показатели, позволяющие оптимизировать диагностику РВС.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования выбраны 164 ребенка, рожденных женщинами, которые перенесли сифилитическую инфекцию. Из числа детей сформированы 3 группы:

1-я группа – 35 новорожденных с РВС с симптомами;

2-я группа – 29 больных с РВС скрытым;

3-я группа – 68 новорожденных, имеющих трансплацентарный перенос специфических антитрепонемных антител.

В основу группировки положены критерии диагноза РВС, сформированные в Приказе № 291 от 30 июля 2001 г. «О мерах по предупреждению распространения инфекций, передаваемых половым путем».

В контрольную группу вошли 30 детей от матерей, не болевших сифилисом.

Ведущими диагностическими критериями любой внутриутробной инфекции являются:

1) клиническое обследование с уточнением характера поражения органов и систем;

2) оценка специфического иммунного ответа организма;

3) обнаружение антигена, причастного к инфекции.

Указанный принцип использован для уточнения клинико-лабораторных и функциональных особенностей течения РВС.

Объем исследования:

1) лабораторные исследования новорожденных:

- гемограмма и биохимический анализ крови (с определением уровня билирубина и его фракций, АСТ и АЛТ);

- серологическое исследование крови в соответствии с инструкцией по выполнению серологических реакций на сифилис (приказ МЗ РФ № 87 от 26.03.2001 года «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса») – серологическое исследование крови новорожденных в 1-е сутки жизни и на 7–8-е сутки жизни с постановкой реакций РСК, РПГА и определением IgM и IgG методом ИФА [6];

- полимеразная цепная реакция по протоколу, предложенному фирмой производителем тест-систем «Ниармедик» (Москва);

2) определение клинического профиля патологии у детей с ВС включало выявление специфических клинических симптомов, сопутствующих состояний; рентгенологическое исследование длинных трубчатых костей, ультразвуковое исследование головного мозга, печени и селезенки.

Работа выполнена в Красноярском государственном университете им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (ректор д.м.н., проф. И.П. Артюхов) и Центральной научно-исследовательской лаборатории КрасГМУ (руководитель лаборатории д.м.н., проф. Ю.В. Котловский).

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Описательная статистика – в виде процентных долей (%), средней (M) и стандартных отклонений (δ). Использовали методы непараметрической статистики (критерий Манна–Уитни при уровне значимости $p < 0,05$), точный критерий Фишера при заданном уровне значимости $\alpha < 0,05$ (5%).

Результаты и их обсуждение

При ВС наблюдается поражение различных органов и систем с нарушением их функции. Однако спектр и выраженность патологической симптоматики, особенно на современном этапе, остается предметом обсуждений.

На основании наших наблюдений у 35 детей с подтвержденным РВС с симптомами установлена следующая частота специфических клинических симптомов (табл. 1). Ведущим клиническим проявлением РВС был остеохондрит I или II степени, выявленный у 74,3% новорожденных (остеохондрит I степени – у 17,1%, остеохондрит II степени – у 57,1%). Диагноз подтвержден результатами рентгенологического исследования. Периостит диагностирован у 11,4% детей и рассматривался как специфический процесс

Таблица 1

Специфические проявления РВС

Клинические проявления	Абс. число больных (n=35) (%)
Розеолезная сыпь	4 (11,4)
Шелушение ладоней и подошв	3 (8,6)
Ринит	6 (17,1)
Остеохондрит I степени II степени	6 (17,1) 20 (57,1)
Периостит	4 (11,4)
Пневмония	3 (8,6)
Гепатит	4 (11,4)
Нефрит	2 (5,7)
Менингоэнцефалит	3 (8,6)
Катаракта	1 (2,9)
Хориоретинит	1 (2,9)

только в сочетании с положительными серологическими реакциями.

Вторым по частоте клиническим проявлением был сифилитический ринит, который сразу выявлялся после рождения у 17,1% новорожденных и проявлялся заложенностью носа и необильным слизистым отделяемым.

С одинаковой частотой (8,6%) диагностированы менингоэнцефалит и пневмония (по результатам секционного материала), а также поражение кожи в виде розеолезной сыпи. У одного ребенка после начала антибактериальной терапии отмечалось ухудшение состояния с повышением температуры тела до субфебрильных цифр и появлением розеолезных высыпаний. Подобное явление расценено как реакция обострения Лукашевича–Яриша–Герксгеймера.

У 8,6% больных отмечено шелушение на ладонях и подошвах.

Гепатит, который сопровождался желтушным и гепатолиенальным синдромами, диагностирован у 11,4% новорожденных. Концентрация общего билирубина при гепатите составила от 296,8 до 394,6 мкмоль/л с преобладанием прямой фракции.

Зарегистрировано два случая нефрозонефрита и по одному наблюдению – катаракты и врожденного хориоретинита.

Оценку специфического гуморального иммунного ответа выполняли иммуноферментным методом с определением IgM и IgG у новорожденных. Известно, что у ребенка при рождении могут определяться IgG, которые проникают через плаценту и являются материнскими. IgM благодаря большой молекулярной массе не проникают через плаценту от матери к плоду; их обнаружение у новорожденных указывает на инфицирование плода, при этом продукция IgM может наступать с 3-го месяца беременности [7–10].

Серологическое исследование методом РСК с кардиолипидным и трепонемным антигенами, РПГА проводили на 1-е сутки и 7–8-е сутки жизни (табл. 2). Положительные результаты РСК с указанными антигенами получены в 1-й группе в 65,7% случаях, во 2-й группе – у 51,7%, в 3-й группе – у 67,4%. При РПГА агглютинация регистрировалась в 1-й группе у 91,4% обследованных, во 2-й группе – у 89,6% и в 3-й – у 91,2%. В контрольной группе все результаты были отрицательными. Низкий процент положительных результатов РСК в сочетании с несовпадением данных РСК и РПГА являются косвенным свидетельством недостаточной avidности антител новорожденного по отношению к кардиолипидному и трепонемному антигенам. Данное обстоятельство может служить объяснением ложноотрицательных серологических результатов. Указание на позитивность РСК и РПГА в 3-й группе обследованных не может служить абсолютным подтверждением внутриутробной инфекции, а является результатом вовлечения в реакцию материнских антител IgG, прошедших плацентарный барьер. Результаты рассмотренных неспецифических серологических тестов подтверждают низкую информативность РСК и РПГА в диагностике РВС.

Диагностика РВС, основанная на определении специфических иммуноглобулинов методом ИФА, позволяет дифференцировать трансплацентарные антитела от матери, которые не подтверждают внутриутробное инфицирование, и собственные антитела ребенка, которые образуются внутриутробно при состоявшейся встрече

Таблица 2

Оценка специфического иммунного ответа

Группы детей	РСК абс. (%)		РПГА абс. (%)		ИФА (IgM) абс. (%)		ИФА (IgG) абс. (%)	
	«+»	«-»	«+»	«-»	«+»	«-»	«+»	«-»
РВС с симптомами (n=35)	23 (65,7)	12 (34,3)	32 (91,4)	3 (8,6)	22 (62,9)	13 (37,1)	32 (91,4)	3 (8,6)
РВС скрытый (n=29)	15 (51,7)	14 (48,3)	26 (89,6)	3 (10,3)	16 (55,2)	13 (44,8)	29 (100)	–
Дети с трансплацентарным переносом антител (n=68)	46 (67,6)	22 (32,4)	62 (91,2)	6 (8,8)	11 (16,2)	57 (83,8)	50 (73,5)	18 (26,5)
Контрольная группа (n=40)	–	40 (100)	–	40 (100)	–	40 (100)	–	40 (100)

**Сопоставление данных определения специфических IgM методом ИФА
и выявления ДНК *Treponema pallidum* методом ПЦР**

Группы детей	ПЦР «+» и IgM «+» абс. (%)	ПЦР «+» и IgM «-» абс. (%)	ПЦР «-» и IgM «+» абс. (%)	ПЦР «-» и IgM «-» абс. (%)
РВС с симптомами (n=21)	9 (42,9)	9 (42,9)	3 (14,2)	–
РВС скрытый (n=13)	6 (46,2)	5 (38,5)	2 (15,3)	–
Дети с трансплацентарным переносом антител (n=18)	–	2 (11,1)	4 (22,2)	12 (66,7)
Контрольная группа (n=30)	–	–	4 (13,3)	26 (87,7)

че с возбудителем. Наличие антитрепонемных IgM является серологическим подтверждением инфицированности ребенка [1, 3, 11, 12].

В 1-й группе при РВС с симптомами диагностически значимый титр IgM отмечен в 62,9% случаев, IgG – в 91,4%; во 2-й группе при РВС скрытом – IgM – у 55,2%, IgG – у 100%. В группе детей с трансплацентарным переносом антител положительный результат IgM выявлен у 16,2% новорожденных, IgG – у 73,5%. В контрольной группе IgM не определялись, а IgG был отрицательным в 100%.

Возможными причинами отсутствия IgM у детей 1-й и 2-й групп может быть либо стихание острой фазы иммунного ответа с внутриутробной манифестацией инфекции, что подтверждается клиническим симптомокомплексом к моменту рождения, либо окончание периода полужизни IgM в постнатальный период к моменту проведения лабораторного исследования (7–8-е сутки) или снижение титра IgM на фоне специфической терапии. Следует отметить, что в литературе недостаточно данных о периоде полужизни IgM при сифилитической инфекции у детей [8, 9, 11, 12].

Положительные значения IgM в 3-й группе, возможно, обусловлены сопутствующей инфекционной патологией или низкой специфичностью используемых тест-систем [3, 4, 9].

Недостатки серологической диагностики и современные требования к верификации возбудителя при любой инфекции определяют необходимость поиска информативных тестов по выявлению патогена. Одним из наиболее значимых методов лабораторного обнаружения ДНК возбудителя является ПЦР. Данные литературы по чувствительности и специфичности этого метода при РВС недостаточны [2, 7, 10, 12].

В ходе исследования изучен 61 образец крови с выявлением ДНК *Treponema pallidum* методом ПЦР. Обследованы пациенты 1-й группы РВС с симптомами – 24 больных, 2-й группы РВС скрытый – 15, 3-й группы дети риска развития РВС – 22 наблюдения и контрольная группа – 30 новорожденных.

Результатами исследования установлено, что в 1-й группе из 24 образцов крови больных РВС с симптомами методом ПЦР ДНК *Treponema pallidum* обнаружена в 75% случаев, отрицательный результат – у 25%. Во 2-й группе из 15 образцов пациентов с РВС скрытым ДНК *Treponema pallidum* выявлена в 80% наблюдений, отсутствие специфической ДНК – у 20%. У детей из группы риска, получавших профилактическое лечение, положительный результат получен у 13,6% новорожденных, отрицательный – у 86,4%. В контрольной группе все результаты ПЦР были отрицательные.

Сопоставлены результаты исследований по совпадению выявленного антигена ДНК *Treponema pallidum* методом ПЦР и IgM иммуноферментным анализом (табл. 3).

В 1-й группе при РВС с симптомами сочетание положительного результата с ДНК *Treponema pallidum* и IgM обнаружено в 42,9% проб. Позитивный результат на ДНК *Treponema pallidum* в отсутствие IgM выявлен у 42,9% обследованных. Отрицательный анализ на антиген при наличии IgM зарегистрирован в 14,2%. Ни в одном случае не установлено совпадение отрицательных результатов.

Во 2-й группе при РВС скрытом совпадение положительных результатов на ДНК *Treponema pallidum* и IgM отмечено в 46,2% проб. Выявление ДНК *Treponema pallidum* в отсутствие IgM установлено у 38,5% новорожденных. Отрицательный тест на антиген при наличии IgM зарегистрирован в 15,3%. Случаев совпадения отрицательных результатов не было.

В 3-й группе риска развития РВС сочетание положительных результатов ПЦР и ИФА не установлено.

В контрольной группе все анализы ПЦР были отрицательные и в 87,7% случаев совпали с отрицательным серологическим результатом.

Результатами исследования установлено, что диагностическая чувствительность ПЦР (процент положительных результатов у лиц с данной инфекцией) составила 76,9%, специфич-

ность (процент отрицательных результатов у здоровых людей) – 100%. При общепризнанной 100%-специфичности метода ПЦР нами установлен невысокий показатель чувствительности, что свидетельствует о присутствии ложноотрицательных результатов. Вероятными причинами потери чувствительности метода могут быть неспецифическое ингибирование ПЦР и/или технические погрешности при проведении исследования.

Заключение

Таким образом, диагностика сифилитической инфекции у новорожденных с помощью только серологических методов недостаточно информативна в связи со значительной частотой ложноотрицательных и ложноположительных результатов, которые связаны как с эндоген-

ными (особенности иммунной системы плода и новорожденного), так и экзогенными (сроки и длительность терапии, качество тест-систем) влияниями.

Результатами проведенного обследования детей с РВС и группы риска по развитию сифилитической инфекции установлено, что серологические методы обследования при РВС недостаточно информативны в связи со значительной частотой ложноотрицательных и ложноположительных результатов; диагностика сифилитической инфекции с выявлением антигена ДНК *Treponema pallidum* показала высокую специфичность, что позволяет отнести этот метод к ведущим подтверждающим трепонемным тестам, которые должны проводиться в первые сутки жизни детям от матерей, больных или болевших сифилисом.

Литература

1. Кубанова А.А., Мелехина Л.Е., Кубанов А.А., Богданова Е.В. Заболеваемость врожденным сифилисом в Российской Федерации в период 2002–2012 гг. Вестник дерматологии и венерологии. 2013; 6: 24–31.

2. Саруханов Б.А., Карп В.П., Сафарова Э.А. Совершенство системы знаний при оценке состояния детей, рожденных женщинами, перенесших сифилис. Клиническая дерматология и венерология. 2012; 3: 62–67.

3. Фриго Н.В., Ротанов С.В., Манукьян Т.В. и др. Лабораторная диагностика сифилиса: вчера, сегодня, завтра. Вестник дерматологии и венерологии. 2012; 4: 16–23.

4. Зайко С.Д. Современные методы серологической диагностики сифилиса. Клиническая лабораторная диагностика. 2011; 5: 38–41.

5. Herremans T, Kortbeek L, Notermans DW. A review of diagnostic tests for congenital syphilis in newborns. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2010; 29 (5): 495–501.

6. Приказ Минздрава РФ от 30.07.2001 № 291 (ред. от 15. 11. 2001) «О мерах по предупреждению распространения инфекций, передаваемых половым путем» (вместе с «Положением об организации деятельности республикан-

ского, краевого, областного, окружного кожно-венерологического диспансера»).

7. Таранушенко Т.Е., Матыскина Н.В. Клинические проявления раннего врожденного сифилиса в неонатальном периоде. Вопросы современной педиатрии. 2006; 5: 372.

8. Kruger C, Malleyeck I. Congenital syphilis: still a serious, under-diagnosed threat for children in resource-poor countries. World J. Pediatr. 2010; 6 (2): 125–131.

9. Ротанов С.В., Эрматова Ф.А. Информативность трепонемспецифических антител класса М при диагностике сифилиса. Вестник дерматологии и венерологии. 2013; 3: 48–55.

10. Shen HJ, Sun MY, Liu AM. Clinical features of 121 infants below 3 months of age with congenital syphilis. Zhonghua Er. KeZaZhi. 2009; 47 (11): 871–873.

11. Прохоренков В.И., Максимов А.С., Обухов А.П. и др. Современные представления об иммунных изменениях при сифилисе. Сибирское медицинское обозрение. 2014; 4 (88): 20–27.

12. Дмитриев Г.А., Доля О.В., Василенко Т.И. Сифилис: феномен, эволюция, новации. М.: БИНОМ. 2010: 256.