

JULIANE FAZIO, BAD SALZUFLEN

Syphilis – Diagnostik ohne TPPA

Was lange gut war, ist leider nicht mehr zu haben. Seit über einem Jahr ist der TPPA-Test nicht mehr im Handel, was die Diagnostik der Syphilis und die Interpretation des Verlaufs erschwert.

Die Zahl der Treponemeninfektionen steigt international und auch in Deutschland seit Jahren deutlich an, besonders betroffen sind dabei Männer, die Sex mit Männern haben (MSM).^{3,4}

DIAGNOSTIK BIS 2022

Die Diagnostik der Syphilis erfolgt entsprechend der aktuellen Leitlinien bis heute mit Hilfe serologischer Testverfahren in einer Stufendiagnostik.^{5,6} Es wird aktuell folgendes Vorgehen empfohlen: Im ersten Schritt werden über einen polyvalenten Suchtest positive Proben identifiziert. Diese werden über einen treponemenspezifischen IgG-Test abgesichert. Zur Ermittlung der Krankheitsaktivität werden treponemenspezifische IgM-Antikörper sowie nicht-treponemenspezifische Lipoid-Antikörper bestimmt.⁵ Besonders in der frühen, noch IgM-dominierten Infektionsphase ist die Sensitivität der polyvalenten Immuno-

assays, welche zumeist als Suchteste verwendet werden, entscheidend. Aufgrund seiner hohen Sensitivität und Spezifität sowie der einfachen Handhabung wurde der Treponema pallidum-Partikel-Agglutinationstest (TPPA) sowohl als Such- als auch als Bestätigungstest in vielen Laboren europaweit eingesetzt. (Abb. 1)

Durch den vom weltweit einzigen Hersteller des TPPAs bekanntgegebenen Produktionsstopp im Jahr 2022 entsteht eine große diagnostische Lücke für verschiedene Fragestellungen, wie die sensitive Eingangsuntersuchung von Proben, die Bestätigung positiver Suchtestergebnisse und die Beurteilung der Gesamtantikörperkinetik im Verlauf. Auch für die Beurteilung von Syphilisbefunden in der Schwangerschaft und die Untersuchung von Proben bei Verdacht auf eine Neurosyphilis ist der TPPA entscheidend. Eine Begründung des Herstellers, warum

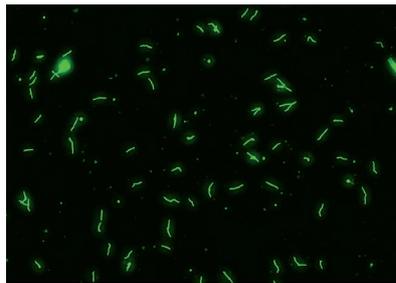
IVDR und die Folgen

Die **Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika (IVDR)** gilt verbindlich seit dem 26.05.2022 und muss schrittweise 2026 vollständig umgesetzt werden. Der Zweck der neuen Verordnung ist es, alle Anforderungen an Hersteller und Anwender von In-vitro-Diagnostika zu vereinheitlichen und stärker zu überwachen. Dadurch soll eine besonders große Sicherheit für die Anwender geschaffen werden, was zu einer bestmöglichen Patientenversorgung beitragen soll.⁷⁻⁹ In der Realität bedeutet es für die Hersteller, dass immense Kosten für die Neuzulassungen der Tests anfallen. Dadurch sehen sich besonders kleinere Firmen und Produzenten von weniger stark gefragten Tests (Nischenprodukte) vor einer großen Herausforderung. Als Konsequenz werden daher Tests vom Markt genommen, da sie den Anforderungen nicht nachkommen können.

Stadien der Syphilis

Eine Infektion mit dem Schraubenbakterium *Treponema pallidum* ssp. *pallidum* ist der Auslöser für eine Syphilis, deren Verlauf in drei Stadien eingeteilt werden kann. Im Frühstadium der Erkrankung, Stadium I, sind Erythem und Ulcus durum mit einer regionalen Lymphknotenschwellung die typischen Symptome.

Kommt es im Verlauf zu einer Ausbreitung der Spirochäten über das Blut, können im Stadium II nach ca. 6 Wochen generalisierte Exantheme und Lymphknotenschwellungen auftreten. Das Stadium III kann nach 3-10, manchmal aber auch erst nach 30 Jahren Erregerpersistenz auftreten und sich z.B. in Form einer Neurosyphilis oder anderen schwerwiegenden Organschäden äußern.^{1,2}



Treponema pallidum im Fluoreszenzmikroskop

dieser so essentielle Test nicht weiter produziert wird, war die Einführung der IVDR (siehe Zusatzinformation im Kasten).

STUDIE DES KONSILIARLABORS

Auch zukünftig muss es für eine valide Syphilis-Diagnostik möglich sein, Untersuchungen auf dem bisherigen Niveau durchzuführen. Daher beschäftigt sich eine der aktuellen Studien des Konsiliarlabors für *Treponema* mit der

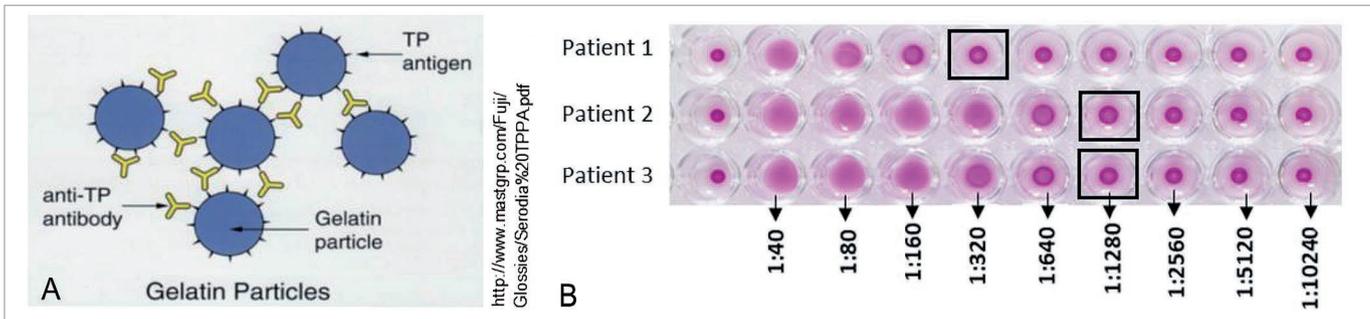


Abb. 1 Funktionsweise des TPPA (A) und Beispiele aus dem Laboralltag (B). (A) Auf Gelatinepartikel aufgebrachte Treponemenantigene binden die bei bestehender oder durchgemachter Infektion im Patientenblut vorhandenen Antikörper und agglutinieren. (B) Bei Agglutination bilden die Gelatinepartikel einen Teppich, wie bspw. bei dem Titer 1:40 der Patienten 1-3. Wenn keine treponemenspezifischen Antikörper im Patientenblut enthalten sind, sammeln sich die Gelatinepartikel am Boden des Reagenzgefäßes, wie bei dem Titer 1:10240 aller drei Patienten.

Möglichkeit anhand polyvalenter Suchteste, positive Proben sicher zu detektieren. Eine Fragestellung war hier, ob durch die Reduktion des Grenzwertes gegenüber den Herstellervorgaben eine Sensitivitätssteigerung der Teste erreicht werden kann. In vielen Laboren und Blutspendediensten wurde der TPPA aufgrund seiner sehr hohen Sensitivität als Suchtest eingesetzt. Eine Studie aus dem Jahr 2021 hat bereits gezeigt, dass die Sensitivität der weiterhin verfügbaren TPHAs (Treponema pallidum-Hämagglutinationstest) und eines TPLAs (auf Basis von Latex- statt Gelatinepartikeln zu gering ist, um als Alternative eingesetzt werden zu können, wie Tabelle 1 und 2 zeigen.¹⁰ Die TPHAs setzen als Träger der treponemenspezifischen Antigene Vogelerythrozyten anstelle der Gelatinepartikel ein. Insbesondere die falsch negativen Ergebnisse beim Vorliegen einer Frühsyphilis mit Primäraffekt schließen die in der Studie untersuchten Testsysteme als Screeningtests aus.

POLYVALENTE SUCHTESTE

Polyvalente Suchteste zum Nachweis treponemenspezifischer Antikörper sind ebenfalls für die Eingangstestung von Patientenproben zugelassen.^{11,12} Im Rahmen einer weiteren Studie aus

	TPPA (Fujirebio)	TPLA (SEKISUI)	TPHA (Bio-Rad)	TPHA (New Bio)
positiv	100%	40,9%	13,6%	13,6%
falsch negativ	0%	59,1%	86,4%	86,4%

Tab. 1 Nachweisquote von Proben mit bekanntem Primäraffekt mit dem TPPA, TPLA und zwei TPHAs verschiedener Hersteller. Die eingesetzten Tests haben gegenüber dem TPPA eine deutlich geringere Sensitivität bei Patienten, die lt. serologischer und klinischer Befunde eine akute Syphilis im Stadium 1 haben. n=22

	TPPA (Fujirebio)	TPLA (SEKISUI)	TPHA (Bio-Rad)	TPHA (New Bio)
positiv	100%	92,6%	74,1%	77,8%
falsch negativ	0%	8,1%	21,6%	18,9%
TPPA ≥1:640 (n=18)	100%	100%	100%	100%
TPPA ≤1:320 (n=9)	100%	77,8%	22,2%	33,3%

Tab. 2 Nachweisquote von Proben mit Syphilis satis curata mit dem TPPA, TPLA und zwei TPHAs verschiedener Hersteller. Auch bei Patienten mit einer ausreichend therapierten Treponemeninfektion werden durch die verwendeten Tests besonders Proben im niedrigeren Titerbereich schlechter erkannt. n=27

dem Jahr 2022 wurden daher drei polyvalente Suchteste verschiedener Hersteller zzgl. dem im Konsiliarlabor für Treponema routinemäßig verwendeten CMIA (Chemilumineszenz-Mikropartikel-Immunoassay) bezüglich ihrer Sensitivität und damit ihrer Eignung als Suchtestersatz geprüft. Die Ergebnisse zeigen, dass die Suchteste zum Teil bereits eine relativ hohe Sensitivität aufweisen, wenn Sie nach Herstellerangaben verwendet werden. Bei Proben mit einer sehr geringen Antikörperantwort, z. B. in der frühen Phase der Infektion oder in seltenen Fällen bei Seronarben, lag die Sensitivität jedoch deutlich niedriger. In der Studie wurde daher untersucht, ob eine Herabsetzung der vom Hersteller vorgegebenen Grenzwerte zu einer

Steigerung der Sensitivität beitragen könnte. Insgesamt wiesen drei der vier untersuchten polyvalenten Suchteste mit Hilfe eines herabgesetzten Grenzwertes eine gute Leistung für eine sensitive Eingangsuntersuchung von Proben zur Diagnostik der Syphilis auf und können somit als Ersatz für den TPPA empfohlen werden.¹³ weitere Daten sind eingereicht

Der TPPA-Titer diene bisher in der Befundung besonders bei Verlaufskontrollen auch zur Einschätzung der Gesamtantikörperkinetik, z. B. nach Therapie, aber auch bei Verdacht auf Reinfektionen.⁶ Eine weitere Fragestellung ist daher, ob die weiterhin verfügbaren Suchteste auch zur Beurteilung der Antikörperkinetik herangezogen werden können.

Test	Probe 1: 12/2014	Probe 2: 01/2019
CMIA	5,47	19,28
TPPA	1:1280	>1:20480
FTAG	>1:20	-
FTAM	n	n
RPR	n	1:32

Tab. 3 **Beispiel eines Befundverlaufs bei einem Patienten mit Reinfektion.** Die Antikörpertiter der Aktivitätsmarker (IgM- und Lipoid-Antikörper) steigen im Verlauf von 12/2014 bis 01/2019 signifikant an und sind ein eindeutiges Zeichen für eine Reinfektion. Der TPPA-Titer stützt diese Aussage, indem er die ansteigende Gesamtantikörperkinetik wiedergibt. Auch im Index-Wert des CMIA kann die ansteigende Antikörperkinetik beobachtet werden.

In Tabelle 3 und 4 sind Beispiele aus der Routinediagnostik des Konsiliarlabors aufgeführt, die zeigen, inwieweit sich der CMIA für diese Fragestellung eignen könnte.

Die Ergebnisse des CMIA zeigen, dass auch mit Hilfe der Index-Werte eine solche Kinetik darstellbar ist. Es können Therapieerfolg und Reinfektion anhand steigender und rückläufiger Index-Werte beobachtet werden.

Für drei der vier in der Studie untersuchten Hersteller ist diese Anwendung nicht vorgesehen und daher außerhalb des vorgegebenen Verwendungszwecks, da die Teste nur qualitativ zugelassen sind. In jedem Fall können die Werte aber unterstützend zur Gesamteinschätzung der Befunde beitragen. Langfristig wäre es daher von Interesse, für alle Testsysteme möglichst eine semiquantitative Anwendung von Seiten der Hersteller in Erwägung zu ziehen.

IGM-ANTIKÖRPERTEST

Durch den Wegfall des TPPAs erhöht sich der Anspruch an die IgM-Antikörperteste. Um eine Therapie als erfolgreich zu beurteilen, soll gemäß der AWMF-Leitlinie ein Rückgang der IgM- und Lipoid-Antikörper von mindestens zwei Verdünnungsstufen, also ein vierfacher Titerrückgang innerhalb des ersten Jahres erreicht werden.⁵ Da

Test	Probe 1: 04/2018	Probe 2: 06/2018	Probe 3: 12/2018	Probe 4: 02/2019
CMIA	17,68	15,69	10,97	10,37
TPPA	1:1280	1:1280	1:1280	1:640
FTAG	>1:20	-	-	-
FTAM	1:1280	1:320	1:20	n
RPR	1:32	1:2	1:1	n

Tab. 4 **Beispiel eines Befundverlaufs bei einem Patienten nach Erstbefund und anschließender Therapie.** Die Antikörpertiter der Aktivitätsmarker (IgM- und Lipoid-Antikörper) sind im Verlauf von 04/2018 bis 02/2019 rückläufig und zeigen den Therapieerfolg an. Der TPPA-Titer stützt diese Aussage. Auch im Index-Wert des CMIA kann die rückläufige Antikörperkinetik beobachtet werden.

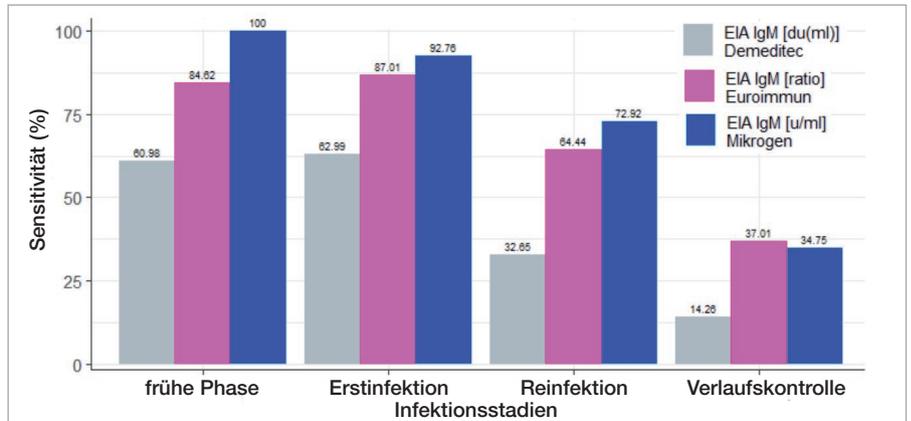


Abb. 2 **Sensitivität der IgM-EIA bezogen auf die verschiedenen Infektionsphasen.** Besonders in den frühen Phasen einer Treponemeninfektion müssen die IgM-Antikörper sicher erkannt werden. Auch im Verlauf sollte die Detektion für eine Beurteilung der Kinetik valide möglich sein.

die Antikörperkinetik nicht mehr im TPPA verfolgt werden kann, wird der Verlauf von IgM-Antikörpertitern und damit die Quantifizierung ebenjener umso wichtiger. In einer weiteren Studie befasst sich das Konsiliarlabor daher aktuell mit dem Vergleich von verschiedenen IgM-Testsystemen.¹⁴ Insgesamt hatten alle untersuchten IgM-EIA eine erheblich reduzierte Sensitivität im Vergleich zum Goldstandard 19s-FTA-ABS-IgM. Unter Berücksichtigung der klinischen Einschätzung (Abb. 2) zeigte sich besonders der Test der Fa. Mikrogen als sehr verlässlich bei der Erkennung der frühen Infektionsphasen. Bei den Verlaufskontrollen nach Therapie sind alle verwendeten Teste deutlich schneller wieder negativ, als der 19s-FTA-ABS-IgM-Test. Es wäre aber dennoch möglich, mit diesen Testen den Therapieerfolg zu dokumentieren. IgM-Immunoblots sind insgesamt weniger sensitiv als die EIA-Teste oder

der 19s-FTA-ABS-IgM-Test und liefern auch nur ein qualitatives Ergebnis mit einer sehr hohen Spezifität.¹⁴ Die Beurteilung der Kinetik ist mit diesen Testen nicht möglich.

NEUROSYPHILIS

Zu den Fragestellungen nach Syphilis in der Schwangerschaft und Diagnostik bei Verdacht auf eine Neurosyphilis sind weitere Studien erforderlich und zum Teil von Seiten des Konsiliarlabors bereits in Planung bzw. Bearbeitung. Nach Klärung aller noch offenen Fragen zur Syphilis-Diagnostik ohne TPPA muss eine neue Leitlinie erarbeitet werden. Die Erstellung einer aktualisierten Leitlinie ist dringend erforderlich, damit Ärzte und Beratungsstellen auch weiterhin eine valide Syphilis-Diagnostik anbieten können.

Dr. rer. nat. Juliane Fazio
MVZ Labor Krone eGmbH
Siemensstraße 40 | 32105 Bad Salzuffeln
E-Mail: jfazio@laborkrone.de

Literatur

- 1 LAFond, R., Lukehart, S. (2016). Biological Basis of Syphilis, *Clinical Microbiology Reviews*.
- 2 Janier, M., Unemo, M., Dupin, N., Tjplica, G., Potočnik, M., Patel, R. (2020). European guideline on the management of syphilis. *JEADV*. (S. 574-588).
- 3 European Centre for Disease Prevention and Control. (2023). Syphilis: Annual epidemiological report for 2021. Stockholm: ECDC.
- 4 Jansen, K., Bremer, V. (2024). Syphilis in Deutschland in den Jahren 2020 – 2022 – Neuer Höchststand von Infektionen nach Rückgang während der COVID-19-Pandemie. DOI10.25646/11907. (S.7:3-24).
- 5 Deutsche STI Gesellschaft. (2023). Diagnostik und Therapie der Syphilis. Von https://register.awmf.org/assets/guidelines/059-002I_S2k_Diagnostik_Therapie_Syphilis_2021_06.pdf abgerufen.
- 6 Hagedorn, H., Brockmeyer, N., Hunfeld, K., Münstermann, D., Potthoff, A., Schöfer, H. (2012). MIQ 16 Qualitätsstandards in der mikrobiologischen-infektologischen Diagnostik. Urban & Fischer Verlag / Elsevier GmbH.
- 7 VERORDNUNG (EU) 2017/746 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 5. April 2017 über In-vitro-Diagnostika und zur Aufhebung der Richtlinie 98/79/EG und des Beschlusses 2010/227/EU der Kommission.
- 8 VERORDNUNG (EU) 2022/112 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 25. Januar 2022 zur Änderung der Verordnung (EU) 2017/746 hinsichtlich der Übergangsbestimmungen für bestimmte In-vitro-Diagnostika und des späteren Geltungsbeginns der Bedingungen für hausinterne Produkte.
- 9 Kahles, A., Goldschmid, H., Volckmar, AL., Ploeger, C., Kazdal, D., Penzel, R., Budczies, J., Flechtenmacher, C., Gassner, UM., Brüggemann, M., Vogeser, M., Schirmacher, P., Stenzinger, A. (2023). Die Verordnung (EU) 2017/746 (IVDR) in der Praxis: Umsetzung von Anhang I in der Pathologie. *Pathologie* 2023 · 44:381-391.
- 10 Guttman, S., Fazio, J., Gunkel, T. (2022). Comparative performance measurement of agglutination assays for antibody detection against *Treponema pallidum*. 74. Jahrestagung DGHM.
- 11 Sena, A., White, B., Sparling, F. (2010). Novel *treponema pallidum* serologic tests: A paradigm shift in syphilis screening for the 21st century, *Clinical Infectious Diseases* 2010, Volume 51. (S. 700-708).
- 12 Park, U., Fakile, Y., Chow, J. (2019). Performance of treponemal tests for the diagnosis of syphilis. *Clin Infect Dis*. (S. 68(6):913-918).
- 13 Fazio J., Höppner, M., Neißer, T., Meyer-Schlinkmann, K., Jansen, K., Hagedorn, H., Münstermann, D. (2023). Four polyvalent screening assays in comparison to the TPPA. *STI&HIV 2023 World Congress*.
- 14 Fazio J., Höppner, M., Neißer, T., Meyer-Schlinkmann, K., Hagedorn, H., Münstermann, D. (2023). Comparison of monovalent Enzymimmunoassays (EIAs) with the gold standard 19s-FTA-ABS-IgM. 75. Jahrestagung DGHM.

SYPHILIS IN DEUTSCHLAND IN DEN JAHREN 2020 – 2022

Neuer Höchststand von Infektionen nach Rückgang während der COVID-19-Pandemie

Im Jahr 2022 wurden dem RKI 8.305 Syphilis-Fälle gemeldet. In den vorausgehenden Jahren 2020 und 2021 fiel die Anzahl der Fälle gegenüber dem jeweiligen Vorjahr um 524 (6,6%) bzw. 665 (9,0%) ab (Abb. 1). Mit einem Anstieg von 1.560 Fällen im Jahr 2022 (23,1%) erreichte die Anzahl der Syphilis-Fälle in Deutschland einen neuen Höchststand. Bundesweit lag die Syphilis-Inzidenz im Jahr 2022 mit 10,0 Fällen/100.000 Einwohner (Einw.) über der Inzidenz der Jahre 2020 (8,9) und 2021 (8,1) und auch über dem Median der fünf Vorjahre (8,9).

GEOGRAFISCHE VERTEILUNG

Wie in den vorherigen Jahren sind große Unterschiede in der Syphilis-Inzidenz zwischen den Bundesländern zu beobachten. Die mit Abstand höchsten Inzidenzen wurden in den Stadt-

staaten Berlin (41,3) und Hamburg (23,1) registriert. Leicht höher als im Bundesdurchschnitt waren die Inzidenzen auch in Bayern (10,6), Sachsen (10,5) und Bremen (10,1). Die Inzidenzen in allen anderen Bundesländern lagen unter dem Bundesdurchschnitt, mit den niedrigsten Werten in Sachsen-Anhalt (5,2), Mecklenburg-Vorpommern (4,9) und Brandenburg (4,4). Insgesamt handelt es sich bei der Syphilis in Deutschland um eine geografisch eher auf die Ballungsräume konzentrierte Epidemie, aber auch ländlichere Gebiete sind betroffen.

INFEKTIONEN BEI MSM

In den Jahren 2020 und 2021 fiel die Anzahl der Syphilis-Fälle von MSM gegenüber dem Vorjahr um 6,7% (-359 Fälle) bzw. 8,8% (-440 Fälle) und stieg 2022 um 18,4% (842 Fälle) an (Abb. 2).

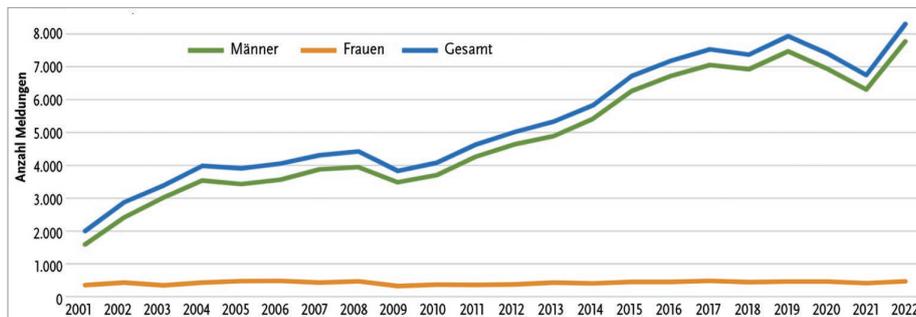


Abb. 1 Syphilis in Deutschland: Anzahl der gemeldeten Fälle nach Geschlecht und Jahr der Diagnose, IFSG-Meldezahlen 2001 – 2022 (n = 116.439)

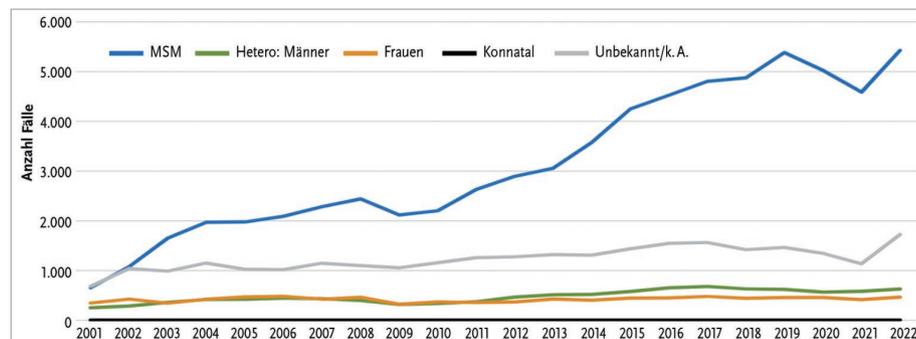


Abb. 2 Anzahl gemeldeter Syphilis-Infektionen nach wahrscheinlichem Infektionsweg. Deutschland, IFSG-Meldezahlen 2001 – 2022 (n = 116.529). MSM = Männer, die Sex mit Männern haben; k. A. = keine Angabe