

Agnieszka Beata Serwin, Bożena Chodynicka

DIAGNOSTYKA SEROLOGICZNA KIŁY – AKTUALNE PROBLEMY I KONTROWERSJE

SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF SYPHILIS – CURRENT PROBLEMS AND CONTROVERSIES

Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

STRESZCZENIE

Diagnostyka serologiczna stanowi podstawę rozpoznania kiły. Największe problemy wiążą się ze znajomością typowych i nietypowych objawów schorzenia, koniecznością badań w szczególnych sytuacjach klinicznych i epidemiologicznych. Zasady interpretacji wyników, znaczenie wyników badań serologicznych w diagnostyce kiły wrodzonej oraz kiły układu nerwowego wymagają szczególnej uwagi. Ważną rolę pełni jakość (standaryzacja, powtarzalność) wykonywanych badań.

Słowa kluczowe: kiła, diagnostyka serologiczna, interpretacja wyników, kiła wrodzona, kiła układu nerwowego

W pracy przedstawiono najistotniejsze źródła głównych dylematów serologicznej diagnostyki kiły: konieczność znajomości typowych i nietypowych objawów choroby, wskazania do serologicznej diagnostyki kiły w aspekcie indywidualnym i populacyjnym, zasady badań serologicznych w kile nabytej i interpretacji wyników odczynów, problemy diagnostyki serologicznej w kile wrodzonej i ośrodkowego układu nerwowego oraz znaczenie jakości badań laboratoryjnych.

WSTĘP

Badania serologiczne stanowią od stu lat podstawę diagnostyki laboratoryjnej kiły. W niniejszym opracowaniu pragniemy zwrócić uwagę na siedem, naszym zdaniem, najistotniejszych i będących przyczyną największych dylematów, zagadnień związanych z diagnostyką serologiczną tej choroby.

SCHORZENIE

Kiła (*syphilis*) jest chorobą układową, wywołaną przez krętek blady – *Treponema pallidum subspecies*

ABSTRACT

Serology remains the mainstay of diagnosis of syphilis. It's most important issues are: the knowledge of typical and atypical symptoms of the disease, the need of the testing in particular clinical and epidemiological situations, the interpretation of tests' results. The most frequent dilemmas and the relevance of serological tests in congenital syphilis and neurosyphilis, as well as the quality (standardization and reproducibility) of laboratory testing are discussed.

Key words: syphilis, serological diagnosis, interpretation of tests' results, congenital syphilis, neurosyphilis

pallidum. Jedynym gospodarzem bakterii jest człowiek, a laboratoryjny model zwierzęcy nie odzwierciedla w pełni przebiegu choroby (1). Istotna rola badania serologicznego w kile wynika przede wszystkim z faktu, że nie opracowano dotąd podłoża do rutynowej hodowli krętka bladego, a metody amplifikacji jego materiału genetycznego nie są powszechnie dostępne ani standaryzowane (2). Przebieg kiły jest przewlekły, z długimi okresami bezobjawowymi, w których żadne metody diagnostyki bezpośredniej nie znajdują zastosowania. Znajomość podstawowych objawów kiły jest obowiązkiem każdego lekarza, należy jednak pamiętać, że obraz kliniczny choroby jest coraz częściej nietypowy, co może wynikać ze stosowanej dość powszechnie antybiotykoterapii. Nietypowe objawy i przebieg kiły obserwowane są u pacjentów ze współistniejącym zakażeniem HIV (3).

PACJENT

W aspekcie indywidualnym, odczyny serologiczne w kierunku kiły powinny być wykonane u każdego cho-

rego z rozpoznaniem zakażeniem przenoszonym drogą płciową (w tym również, między innymi, wirusowym zapaleniem wątroby) i jego partnera (lub partnerów). Wykonanie takich badań należy również rozważyć w szczególnych sytuacjach, np. w przypadku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych o niewyjaśnionej etiologii, nagłej utraty wzroku lub słuchu oraz ostrego epizodu wieńcowego, szczególnie u młodych osób, po wykluczeniu innych przyczyn (4).

Kwalifikacja do badań przesiewowych w kierunku kiły w populacji jest zagadnieniem bardziej skomplikowanym, ponieważ wiąże się z aspektami nie tylko medycznymi ale także prawnymi i ekonomicznymi. Unia Europejska nie wypracowała, jak dotąd, jednolitych zasad masowych badań przesiewowych w kierunku kiły. Niewątpliwie badaniom takim powinni być poddawani dawcy krwi, narządów i kobiety w ciąży (przynajmniej jeden raz). W niektórych krajach obowiązkowe badania w kierunku kiły są wykonywane wśród grup zwiększonego ryzyka, np. homoseksualistów, osób uzależnionych, imigrantów (4, 5).

TESTY PRZESIEWOWE I POTWIERDZAJĄCE

Strategia diagnostyki serologicznej w kile opiera się na dwóch etapach: badaniu przesiewowym (skryningowym), mającym na celu wykrycie jak największej liczby zakażonych w badanej populacji oraz potwierdzeniu dodatnich wyników odczynem o większej swoistości, w celu wykluczenia wyników fałszywie dodatnich w badaniu przesiewowym. W Polsce, podobnie jak w Stanach Zjednoczonych, do badań skryningowych stosuje się niekrętkowe odczyny kłaczkujące (tzw. „klasyczne”), w których antygenem jest wystandaryzowana mieszanina kardiolipiny, lecytyny i cholesterolu (zwana dawniej „reaginą”): Unheated Serum Reagin (USR) test, Rapid Plasma Reagin (RPR) test lub odczyn Venereal Disease Research Laboratory (VDRL), Tolidin Red Unheated Serum Test. Zaletą tych odczynów jest przede wszystkim niska cena (około 0,5 US\$), prostota wykonania, standaryzacja oraz dostateczna swoistość (powyżej 95%). Największą wadą – niską czułość w kile późnej (nawet poniżej 40%) (6). Przede wszystkim z tego powodu w zaleceniach, opracowanych przez ekspertów *International Union against Sexually Transmitted Infections* (IUSTI), do badań przesiewowych zalecane są odczyny immunoenzymatyczne (ang. *enzyme immunoassays* - EIA) z zastosowaniem rekombinowanych antygenów krętka białego o masie cząsteczkowej 15 kDa, 17 kDa, 44,5 kDa lub 47 kDa (4). Cena pojedynczego odczynu EIA w laboratoriach, wykonujących rutynowo dużą liczbę testów, jest niższa niż odczynu niekrętkowego, dodatkową zaletą jest wyższa

swoistość oraz niemal całkowita automatyzacja. Drugim w kolejności, po odczynie EIA, zalecanym przez IUSTI testem przesiewowym jest *Treponema pallidum particle assay* – TPPA. Do potwierdzenia dodatniego odczynu przesiewowego powinien służyć odczyn krętkowy oparty o inną zasadę techniczną niż zastosowany w skryningu. Podejrzanie fałszywie dodatniego wyniku odczynu krętkowego można zweryfikować odczynem opartym o Western blot (4). Istnieją jednak kontrowersje dotyczące kryteriów diagnostycznych kiły w oparciu o wyniki tego odczynu. Część autorów uważa, że do postawienia rozpoznania kiły należy wykazać obecność co najmniej dwóch przeciwciał skierowanych przeciwko czterem antygenom krętka: TpN47, TpN17, TpN15, TmpA (7). Inni autorzy sądzą, że należy stwierdzić obecność co najmniej trzech z pięciu przeciwciał (przeciwko antygenom TpN47, TmpA, TpN37, TpN17, TpN15), w tym co najmniej jednego o najniższej masie cząsteczkowej (8, 9). Ostatnio wykazano, że reaktywność odczynu różni się w poszczególnych okresach kiły (10). W Polsce ostateczną weryfikację serologicznego rozpoznania kiły stanowi dodatni wynik odczynu immobilizacji krętków (odczyn Nelsona-Mayera). Pozytywny test potwierdzający należy uzupełnić jednocześnie wykonanym badaniem metodą ilościową odczynu VDRL lub RPR, w celu śledzenia adekwatnej odpowiedzi serologicznej po leczeniu (4).

INTERPRETACJA KIŁOWYCH ODCZYNÓW SEROLOGICZNYCH

Interpretacja wyników odczynów może być najtrudniejszą częścią postępowania diagnostycznego i powinna pomóc w odpowiedzi: czy pacjent ma aktywne zakażenie i powinien być leczony oraz, jeśli tak, w jakim jest okresie infekcji, co warunkuje wdrożenie odpowiedniego leczenia. Możliwe są wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne odczynów, a także odczyny biologicznie mylne (OBM). OBM (ostre lub przewlekłe) mogą występować u pacjentów niezakażonych krętkiem białym, w stanach patologicznych, w których uwalniane są duże ilości lipidowego antygeny z błon komórkowych gospodarza, głównie w procesach zapalnych lub nowotworowych. Odczyny biologicznie mylne mają zwykle niskie miana (1). Wyniki odczynów serologicznych należy interpretować w kontekście danych z wywiadu ogólnego i epidemiologicznego, a także badania klinicznego pacjenta. Należy pamiętać, że dane z wywiadu, szczególnie dotyczące kontaktów seksualnych, nie zawsze są wiarygodne ani dostępne. W praktyce, największe trudności może sprawiać odróżnienie tzw. „blizny serologicznej”, czyli przetrwania dodatnich wyników odczynów, zarówno klasycznych jak i krętkowych, po dostatecznym leczeniu kiły, od wy-

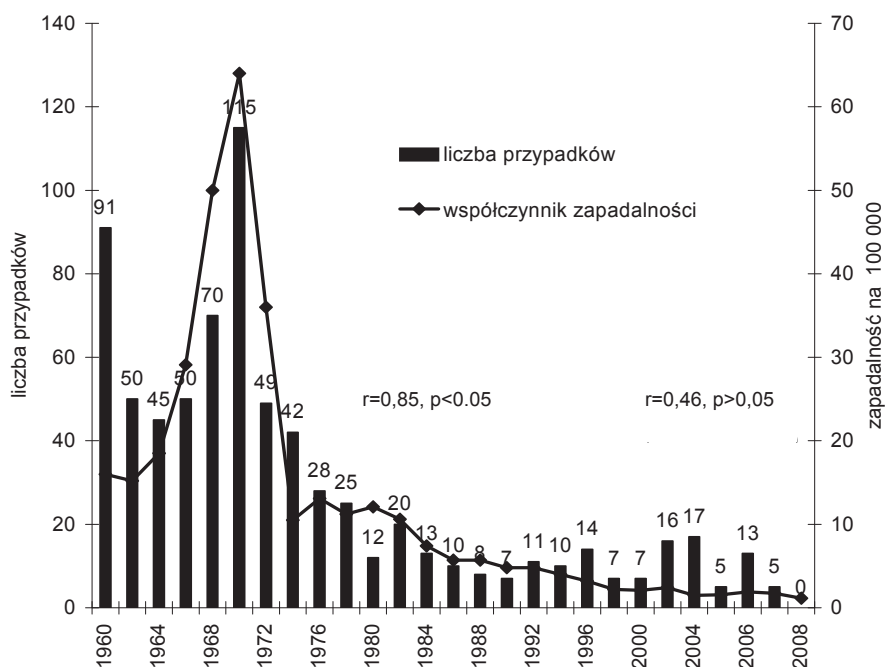
ników odczynów w kile późnej bezobjawowej. W obu sytuacjach miana odczynów są zwykle niskie. W razie wątpliwości, pacjent powinien otrzymać leczenie zgodne z najbardziej prawdopodobnym okresem kiły.

ZNACZENIE BADANIA SEROLOGICZNEGO W DIAGNOSTYCE KIŁY WRODZONEJ

Znaczenie przesiewowych badań serologicznych w profilaktyce kiły wrodzonej nie budzi wątpliwości. Do końca XX wieku w Polsce liczba przypadków kiły wrodzonej wyraźnie korelowała z zapadalnością na kiłę wczesną. Od 2001 r. korelacja ta zdecydowanie osłabła, co może wskazywać, z jednej strony na niepełną zgłaszalność przypadków kiły nabytej oraz wrodzonej, ale także na niedostateczną profilaktykę wśród kobiet ciężarnych (ryc. 1).

nego. Ze względu na fakt, że dodatni wynik odczynu krętkowego oraz klasycznego u noworodka może być wynikiem biernego przeniesienia przeciwciał od matki, musi być on poparty przynajmniej jednym z szeregu kryteriów: klinicznych, radiologicznych lub laboratoryjnych (4). Zwraca się uwagę na wartość diagnostyczną następujących zjawisk serologicznych:

- czterokrotnie wyższego miana odczynu niekrętkowego (lub krętkowego) we krwi noworodka w porównaniu z jego mianem we krwi matki (warunkiem jest jednoczesne pobranie krwi od kobiety i dziecka podczas porodu); kryterium to spełnione jest jedynie u około 20% zakażonych noworodków (11),
- wykrycie przeciwciał przeciwkrętkowych klasy IgM we krwi noworodka, które ze względu na dużą cząsteczkę nie przechodzą przez łożysko (przy pomocy odczynu 19S-IgM-FTA-ABS, monowalentnego odczynu EIA lub Western blot); przeciwciała te



Ryc. 1. Zapadalność na kiłę wczesną na 100 000 ludności i liczba przypadków kiły wrodzonej do 1. roku życia w Polsce w latach 1960 – 2008

Fig. 1. Incidence of early syphilis per 100,000 inhabitants and the number of congenital syphilis up to 1 year of age in Poland in 1960 – 2008

Rola wyników odczynów serologicznych w diagnostyce kiły wrodzonej jest zagadnieniem bardziej skomplikowanym niż w profilaktyce tego schorzenia. Do pewnego rozpoznania tego zakażenia jest niezbędne wykazanie krętków białych lub materiału genetycznego bakterii w łożysku, w badaniu autopsyjnym płodu lub w zmianach klinicznych u noworodka lub niemowlęcia (1,4). Ponad połowa zakażonych dzieci rodzi się bez żadnych objawów, co uniemożliwia wykonanie diagnostyki bezpośredniej w najwcześniejszym okresie infekcji. Badania serologiczne mogą być pomocne w postawieniu wyłącznie rozpoznania prawdopodob-

mogą być jednak niewykrywalne, jeśli matka została zakażona w ostatnich tygodniach ciąży, a dziecko przechodzi najwcześniejszy okres infekcji, zatem ich brak w surowicy noworodka nie wyklucza kiły wrodzonej (11-13),

- czterokrotne obniżenie miana odczynu krętkowego (lub niekrętkowego) u dziecka po porodzie w ciągu 3 miesięcy, jeśli przeciwciała pochodzą tylko od matki (4); śledzenie miana odczynów u dziecka może wiązać się z ryzykiem opóźnienia rozpoczęcia leczenia,
- dodatnie odczyny serologiczne u dziecka po ukoń-

czeniu 1. roku życia; kryterium to ustalono ze względu na konieczność negatywizacji, do 12 miesięcy po porodzie, odczynów klasycznych i krętkowych, spowodowanych biernym przeniesieniem przeciwciał od matki; należy pamiętać, że dziecko w tym wieku może być ofiarą przemocy seksualnej i mieć dodatnie odczyn w wyniku kiły nabytej.

Podsumowując, znaczenie badań serologicznych w rozpoznaniu kiły wrodzonej jest obarczone istotnymi ograniczeniami i zdiagnozowanie zakażenia przy porodzie może nie być możliwe z zastosowaniem żadnego z dostępnych odczynów serologicznych (12).

ZNACZENIE BADAŃ SEROLOGICZNYCH W DIAGNOSTYCE KIŁY UKŁADU NERWOWEGO

Do zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (oun) krętkiem bladym dochodzi u 40% pacjentów w okresie kiły wczesnej, u większości pacjentów przebieg zakażenia jest bezobjawowy (1). Nie ma jednego objawu swoistego dla kiły oun, dlatego diagnostyka opiera się na połączeniu wyników badania klinicznego, badań obrazowych oraz laboratoryjnych, w tym badania płynu mózgowo-rdzeniowego (m-r). Wskazaniem do punkcji lędźwiowej u pacjenta z potwierdzoną kiłą są: odchylenia neurologiczne, psychiczne, okulistyczne, a także laryngologiczne (4). Szczególną grupę stanowią również pacjenci z kiłą i zakażeni HIV bez żadnych odchylen w powyższych badaniach. Wykazano, że w tej grupie chorych wykonanie badania płynu m-r jest najbardziej uzasadnione, jeśli miano odczynu RPR lub VDRL w surowicy wynosi co najmniej 1:32 i (lub) liczba komórek CD4+ jest mniejsza niż 350/ μ l, szczególnie jeśli czas trwania zakażenia krętkiem jest trudny do ustalenia (14).

Warunkiem prawidłowej interpretacji wyników badania płynu m-r i badań serologicznych jest jednocześnie pobranie płynu i surowicy oraz zbadanie ich przy pomocy tych samych odczynników, w tym samym laboratorium, co w praktyce bywa największym ograniczeniem. Badanie płynu m-r powinno uwzględniać ogólne parametry, świadczące o obecności stanu zapalnego oun (w tym: liczbę leukocytów, stężenie białka i glukozy), wyniki odczynów serologicznych – klasycznych i krętkowych oraz indeksy, wskazujące na wewnątrzoponową produkcję przeciwciał wykrywanych w odczynach serologicznych. Swoistość odczynu VDRL w płynie m-r jest bardzo wysoka, ale czułość wynosi średnio około 30% i wypada on ujemnie szczególnie u pacjentów z kiłą bezobjawową oun i z porażeniem postępującym (1,15).

Przeciwciała klasy IgG, wykrywane w odczynach krętkowych, mogą biernie przeniknąć przez barierę krew-płyn m-r, dlatego czułość tych odczynów w płynie

m-r jest bardzo wysoka, ale swoistość niska. W praktyce, ujemne wyniki odczynów krętkowych w płynie mózgowo-rdzeniowym wykluczają kiłę oun, natomiast wyniki dodatnie wymagają potwierdzenia wskaźnikami, świadczącymi o ich produkcji wewnątrz oun. Najnowsze zalecenia europejskie opierają rozpoznanie kiły un na podstawie: dodatniego wyniku odczynu VDRL w płynie m-r, lub alternatywnie – spełnieniu dwóch kryteriów jednocześnie: liczby komórek jednojądrowych w płynie m-r powyżej 5-10 w mm^3 oraz dodatniego wyniku odczynu TPPA, TPHA lub FTA-ABS w płynie (4). Wykazano, że wskaźnik TPHA Vienna 2000 (miano odczynu TPHA w płynie m-r, dzielone przez iloraz stężenia albumin w płynie m-r i surowicy) ma wyższą czułość i równie wysoką swoistość jak odczyn TPHA, i jego wartość powyżej 70, podobnie jak miano odczynu TPHA powyżej 1:320 w płynie m-r mogą być najbardziej wiarygodnymi parametrami diagnostycznymi kiły un (4, 15).

JAKOŚĆ BADAŃ LABORATORYJNYCH W SEROLOGII KIŁY

Po zreformowaniu systemu opieki zdrowotnej w Europie powstało wiele niepublicznych laboratoriów, w których, czasami odpłatnie, można wykonać badania serologiczne w kierunku kiły. Część spośród tych laboratoriów stosuje tak zwane szybkie odczyny kiłowe, wyłącznie jakościowe, oparte o zasadę immunochromatografii. W krajach o niskiej zapadalności na kiłę, a do takich wciąż należy Polska i inne kraje rozwinięte, odczyny te, ze względu na ich bardzo wysoką czułość, są przyczyną dużej liczby wyników fałszywie dodatnich i muszą być weryfikowane odczynami tradycyjnymi (4, 16). Dyrektywa Unii Europejskiej z 2000 r. zliberalizowała rynek produktów do diagnostyki *in vitro*, odstępując od kosztownych i powtarzanych badań, oceniających nowo wprowadzane i dostępne komercyjnie odczyny do diagnostyki serologicznej kiły (17). W Republice Federalnej Niemiec na rynku istnieje ponad 40 producentów różnych odczynów do tej diagnostyki, co ma wymierne konsekwencje medyczne i ekonomiczne. Eksperti postulują, aby diagnostyka serologiczna kiły była wykonywana wyłącznie w niezależnych od nacisków komercyjnych specjalistycznych laboratoriach, które biorą udział w ciągłej kontroli jakości, a stosowane testy podlegały również kontroli i jak największej standaryzacji (18).

WNIOSKI

Podsumowując, diagnostyka serologiczna kiły wciąż pozostaje zagadnieniem skomplikowanym. Należy pamiętać o podstawowych zasadach: konieczności

wykonywania badań serologicznych w uzasadnionych sytuacjach klinicznych, rozważnej interpretacji wyników, z uwzględnieniem możliwości wyników fałszywie dodatnich, fałszywie ujemnych i biologicznie mylnych oraz utrzymywaniu wysokiej jakości pracy laboratoriów wykonujących diagnostykę serologiczną kiły. Oczekujemy wciąż na wprowadzenie nowoczesnych, zautomatyzowanych i wystandaryzowanych, dostępnych ekonomicznie oraz odpowiadających sytuacji epidemiologicznej w polskich warunkach odczynów do serologicznej diagnostyki kiły.

PIŚMIENNICTWO

1. Chodynicka B, Serwin AB, Klepacki A. Kiła. W: Mroczkowski TF, red. Choroby przenoszone drogą płciową. Wyd. 2. Lublin: Wydawnictwo Czelej; 2006:245 – 326.
2. Serwin AB, Chodynicka B. Diagnostyka bezpośrednia kiły – współczesne standardy i kierunki badań. *Przegl Epidemiol* 2006;60:795-801.
3. Lynn WA, Lightman S. Syphilis and HIV a dangerous combination. *Lancet Infect Dis* 2004; 4(7): 456-466.
4. French P, Gomberg M, Janier M, Schmidt B, i in. 2008 European Guideline on the Management of Syphilis. <http://www.iusti.org/regions/Europe/IUSTI%20syphilis%20guideline%202008.pdf>
5. Lowndes CM, Fenton K.A. Surveillance system for STIs in the European Union: facing a changing epidemiology. *Sex Transm Inf* 2004;80(4):264-71.
6. Wicher K, Horowitz, Wicher V. Laboratory methods for the beginning of the third millennium. *Microb Infect* 1999;1(12):1035-49.
7. Ebel A, Vanneste L, Cardinaels M, i in. Validation of the INNO-LIA Syphilis kit as a confirmatory assay for *Treponema pallidum* antibodies. *J Clin Microbiol* 2000;38(1):215-9.
8. Byrne RE, Laska S, Bell M, i in. Evaluation of a *Treponema pallidum* Western blot assay as a confirmatory test for syphilis. *J Clin Microbiol* 1992;30(1):115-122.
9. Sambri V, Marangoni A, Eyer C, i in. Western immunoblotting with five *Treponema pallidum* recombinant antigens for serologic diagnosis of syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8(3):534-539.
10. De Lemos EA, Belem ZR, Santos A, i in. Characterization of the Western blotting IgG reactivity patterns in the clinical phases of acquired syphilis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;58(8):177 -183.
11. Stoll BJ, Lee FK, Larsen SA, i in. Clinical and serologic evaluation of neonates for congenital syphilis: a continuing diagnostic dilemma. *J Infect Dis* 1993;167(5):1093-9.
12. Herremans M, Notermans DW, Mommers M, i in. Comparison of a *Treponema pallidum* IgM immunoblot with a 19S fluorescent treponemal antibody absorption test for the diagnosis of congenital syphilis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(1): 61-6.
13. Rawstron SA, Mehta S, Bromberg K. Evaluation of a *Treponema pallidum* - specific IgM enzyme immunoassay and *Treponema pallidum* Western blot antibody detection in the diagnosis of maternal and congenital syphilis. *Sex Transm Dis* 2004;31(2):123-6.
14. Marra CM., Maxwell CL, Smith SL, i in. Cerebrospinal fluid abnormalities in patients with syphilis: association with clinical and laboratory features. *J Infect Dis* 2004;189(3):369-76.
15. Luger AF, Schmidt BL, Kaulich M. Significance of laboratory findings for the diagnosis of neurosyphilis. *Int J STD AIDS* 2000;11(4):224-34.
16. Zarakolu P, Buchanan I, Tam M, i in. Preliminary evaluation of an immunochromatographic strip test for specific *Treponema pallidum* antibodies. *J Clin Microbiol* 2002; 40(8): 3064-5.
17. Place JF. The coming age of in vitro testing. *IVD Technol.* <http://www.device-link.com/ivdt/archive/00/09/002.html>
18. Müller I, Brade V, Hagedorn H-J, i in. Is serological testing a reliable tool in laboratory diagnosis of syphilis? Meta-analysis of eight external quality control surveys performed by the German infection serology proficiency testing program. *J Clin Microbiol* 2006;44(4):1335-41.

Otrzymano: 28.07.2009 r.

Zaakceptowano do druku: 9.09.2009 r.

Adres do korespondencji:

Dr hab. med. Agnieszka B. Serwin
Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu
Medycznego w Białymstoku
Ul. Żurawia 14,15-540 Białystok
tel. 085 7409570, fax: 085 7409406,
e-mail: agabser@amb.edu.pl