

Kiła — nowa diagnostyka starej choroby

Dane prezentowane podczas seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi” (Warszawa, 5–6 października 2015 r.)

Syphilis — new diagnostics old disease. Data presented at the seminar “Advances in blood donor screening” (Warsaw, 5–6 October 2015)

Ewa Sulowska

Zakład Wirusologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

J. Transf. Med. 2015; 8: 157–159

Wstęp

Kiła (łac. *syphilis*) to choroba zakaźna przenoszona najczęściej podczas kontaktów seksualnych, wywołana przez bakterię *Treponema pallidum* (TP) należącą do rodziny *Spirochaetaceae*. Jedynym żywicielem tej bakterii jest człowiek. Okres wylegania choroby wynosi 9–90 dni. Kiłę cechuje wieloletni przebieg z następującymi po sobie okresami objawowymi i bezobjawowymi. Może przebiegać w sposób utajony, ulegać samowyleczeniu lub wywoływać poważne zmiany narządowe. Zakaźność TP jest ściśle związana z okresem choroby, największa jest w dwóch pierwszych latach. Wiąże się to z obecnością u chorych zmian skórnych, którym towarzyszy wydzielina ze znaczną zawartością bakterii. Wyróżnia się kiłę nabytą i wrodzoną [1]. Krwiodawca znajdujący się w każdym ze stadiów choroby może przenieść zakażenie na biorcę.

Diagnostyka

Rozpoznanie choroby opiera się na obrazie klinicznym, wywiadzie epidemiologicznym oraz wynikach badań laboratoryjnych [2].

Diagnostyka bezpośrednia polega na identyfikacji żywych drobnoustrojów na podstawie ich morfologii. *Treponema pallidum* to spiralne bakterie Gram-ujemne o średnicy 0,1–0,4 μm i długości

5–20 μm , dobrze widoczne w ciemnym polu mikroskopu świetlnego. Czulość tej metody wynosi 70–80% [3].

Testem referencyjnym o najwyższej czulości jest próba biologiczna — test zakaźności królika (RIT, *rabbit infectivity test*). Polega on na dojadrowym zakażeniu królików — jest to jedyny skuteczny sposób namnażania krętka bladego [2].

Hodowla krętka bladego jest bardzo trudna, bakterie są wrażliwe na wysychanie i inne czynniki środowiska. Można utrzymać je przy życiu na podłożu znanym jako system hodowlany Fieldsteela. Podwojenie liczby bakterii następuje po 30–50 godzinach, po tym czasie tempo wzrostu spada i należy przenieść TP na kolejne podłoże [3].

W ostatnich latach prowadzone są badania nad metodami biologii molekularnej polegającymi na amplifikacji materiału genetycznego krętka bladego. Na początku lat 90. XX wieku opracowano pierwsze testy wykorzystujące polimerazową reakcję łańcuchową (PCR, *polymerase chain reaction*), w których amplifikowano fragmenty genów kodujących białka błonowe krętka bladego [4, 5]. Czulość metody była bardzo wysoka i wynosiła od 1–10 krętków w badanej próbce. Obecnie stosowane testy biologii molekularnej wykorzystujące metodę PCR amplifikują fragment genu kodującego DNA I (poIa). Sekwencja nukleotydowa tego genu charakteryzuje się największą

konserwatywnością. Tego typu testy mają bardzo wysoką czułość i swoistość porównywalną z próbą biologiczną. Znalazły one zastosowanie w badaniach diagnostycznych krwi, płynu mózgowo-rdzeniowego i owodniowego [6].

Jednak rutynowa diagnostyka nadal najczęściej opiera się na metodach pośrednich, wykrywających przeciwciała skierowane przeciwko antygenom krętka bladego. Wyróżnia się dwie grupy testów serologicznych:

- **klasyczne** — antygenami stosowanymi w tych odczynach do wykrycia przeciwciał są antygeny lipidowe. Do testów klasycznych zalicza się tak zwane testy kłaczujące: test Wassermana, *Veneral Disease Research Laboratory* (VDRL), *Unheated Serum Reagin* (USR). Stosuje się w nich antygen zastępczy — kardiolipinę [7]. Wykrywają przeciwciała przeciwlipidowe klasy IgG i IgM, wytwarzane również w przebiegu zakażeń innymi krętkami (np. brucelozie, boreliozie) oraz w chorobach o podłożu autoimmunologicznym (choroby reumatyczne, kolagenozy) [2, 5]. Czuość różnych testów niekrętkowych jest podobna, aczkolwiek ulega zmianie w poszczególnych okresach choroby. Uważa się, że dla kiły I okresu wynosi 80%, dla kiły II okresu i utajonej wczesnej — 100%, dla kiły utajonej i objawowej późnej — 71%, a dla kiły utajonej późnej — 40% [7, 8];
- **krętkowe** — w których do wykrywania swoistych przeciwciał anti-TP wykorzystuje się antygeny krętków kiły. Do tego typu testów zaliczają się na przykład: *T. pallidum immobilization test* (TPI), *Fluorescent Treponemal Antibody* (FTA), *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test* (FTA-ABS), *Treponema Pallidum Haemagglutination Assay* (TPHA), *enzyme-linked immunosorbent assay* (EIA), *Western blot* (WB) [7]. W porównaniu z testami klasycznymi charakteryzują się one większą swoistością i czułością. Wyniki dodatnie u większości zakażonych osób utrzymują się przez 2–3 tygodnie od chwili zakażenia w przypadku kiły pierwszorzędowej (która może trwać 6–9 tygodni od momentu zakażenia) oraz u 100% chorych w przypadku kiły drugorzędowej (która może trwać 9–15 tygodni od momentu zakażenia) [7].

Na podstawie oceny czułości i swoistości testów serologicznych wykrywających przeciwciała przeciwko TP Międzynarodowa Organizacja ds. Chorób Przenoszonych Drogą Płciową (IUSTI, *International Union Against Sexually Transmitted Infections*) zaleca stosowanie w badaniach przeglądowych

testów swoistych — krętkowych, na przykład testów immunoenzymatycznych (EIA) [9].

Zgodnie z rekomendacjami IUSTI badania potwierdzające zakażenia TP należy wykonywać innym testem niż badanie przeglądowe. Zaleca się, aby do potwierdzenia wyników powtarzalnie reaktywnych wykorzystywać 2 rodzaje testów. Jeśli na przykład powtarzalnie reaktywny wynik testu przeglądowego uzyskano w teście EIA, badania weryfikacyjne powinny być wykonane za pomocą 2 spośród testów typu TPHA, FTA, FTA-ABS, WB.

W Polsce od 2012 roku do badań przeglądowych w kierunku TP u krwiodawców wykorzystywane są testy swoiste oparte na metodzie immunochemiluminescencji (CMIA, *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*), EIA, TPHA [10]. Stała dyskwalifikacja dawcy następuje po uzyskaniu wyniku dodatniego w przynajmniej 2 testach potwierdzenia. W przypadku uzyskania innych wyników nakładana jest dyskwalifikacja czasowa. Dawca z dyskwalifikacją czasową może ponownie oddawać krew po uzyskaniu wyników ujemnych w teście przeglądowym oraz testach potwierdzenia. Po potwierdzeniu zakażenia TP dawcę należy na stałe skreślić z rejestru dawców krwi, skierować do poradni wenerologicznej, zgłosić na odpowiednim formularzu do stacji SANEPID. Jeżeli w testach potwierdzenia uzyskamy rozbieżne wyniki (jeden dodatni, drugi ujemny/nieokreślony), może to świadczyć o wczesnym etapie zakażenia lub nieswoistych reakcjach. Należy nałożyć dyskwalifikację czasową na okres 3 miesięcy (długość tego okresu jest ściśle związana z czasem wylegania choroby, sięgającym nawet 90 dni), następnie wykonać ponownie badania przeglądowe i weryfikacyjne. W kolejnych badaniach kontrolnych oczekujemy braku wyników nieswoistych lub potwierdzenia zakażenia (wyniki zgodnie reaktywne obu testów potwierdzenia). W trakcie procedury weryfikacji wyników reaktywnych badania przeglądowego należy zwrócić szczególną uwagę na wszelkie informacje o potencjalnie ryzykownych zachowaniach/sytuacjach. Niekiedy konieczne jest skierowanie krwiodawcy do poradni wenerologicznej na dalsze badania już po uzyskaniu jednego wyniku dodatniego w teście potwierdzenia.

Diagnostyka zakażeń TP jest istotna ze względu na zwiększoną liczbę zachorowań. Współczynnik zapadalności (liczba przypadków zachorowań na 100 000 mieszkańców) na kiłę w Polsce w ostatnich latach wynosił: 2010 r. — 2,14, 2011 r. — 2,2, 2012 r. — 2,6, 2013 r. — 3,5, 2014 r. — 3,2 [11–14]. Równocześnie wyraźnie zmniejsza się liczba badań w kierunku diagnostyki *T. pallidum* w ośrodkach wenerologicznych. Przed reformą służby zdrowia w Polsce wykonywano około 8 milionów badań w kierunku zakażenia TP, na-

tomiasz w 2011 roku było ich mniej niż 100 000 [12]. Również sytuacja epidemiologiczna w krajach sąsiadujących z Polską może budzić niepokój, ponieważ współczynnik zapadalności jest wyższy, często wielokrotnie: w Czechach wynosi 7,7, w Słowacji — 4,2, na Węgrzech — 5,5, na Łotwie — 10,3, na Litwie — 9,7, na Ukrainie — 27,5, a w Rosji — 59,3 [15].

Konflikt interesów

Praca powstała na podstawie wykładu wygłoszonego podczas seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi” (Warszawa, 5–6 października 2015 r.), organizowanego przez Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. pod nadzorem merytorycznym Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie.

Piśmiennictwo

- Jakubowicz O. Kiła — realne zagrożenie. Część I. *Nowiny Lekarskie* 2009; 78: 335–338.
- Jakubowicz O. Kiła — realne zagrożenie. Część II. *Nowiny Lekarskie* 2010; 79: 334–336.
- Szewczyk E.M. Diagnostyka bakteriologiczna. PWN, Warszawa 2009: 181–183.
- Saiki R.K., Gelfand D.H., Stoffel S. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988; 239: 487–491.
- Burstein J.M., Grimprel E., Lukehart S.A., Nordgard M.V., Radolf J.D. Sensitive detection of *Treponema Pallidum* by using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29: 62–69.
- Liu H., Rodes B., Chen C.-Y., Steiner B. New tests for syphilis: rational design of a PCR method for detection of *Treponema pallidum* in clinical specimens using unique regions of the DNA polymerase I gene. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39: 1941–1946.
- Pawińska A. Diagnostyka kiły. W: Brojer E., Grabarczyk P. (red.). Czynniki zakaźne istotne w transfuzjologii. Fundacja Pro Farmacia Futura, Warszawa 2015; 224–230.
- Wicher K., Horowitz H.W., Wicher V. Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. *Microbes Infect.* 1999; 1: 1035–1049.
- Binnicker M. J. It is time to use treponema-specific antibody screening test for diagnosis of syphilis. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50: 2–6.
- Łętowska M. (red.). Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych publicznej służby krwi. Praca zbiorowa, wyd. III. Warszawa 2014.
- Majewski S., Rudnicka I. Choroby przenoszone drogą płciową w Polsce w 2010 r. *Przegl. Epidemiol.* 2012; 66: 453–458.
- Majewski S., Rudnicka I. Choroby przenoszone drogą płciową w Polsce w 2011 r. *Przegl. Epidemiol.* 2013; 67: 379–381.
- Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej 2013; 10: 387.
- Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej 2014; 10: 388.
- Arasiewicz H., Kowalska M. Regionalne zróżnicowanie zapadalności na kiłę. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2012; 93: 62–66.