Об эффективности и перспективе применения теста Исследовательской лаборатории венерических заболеваний (VDRL) для диагностики нейросифилиса в Российской Федерации

Г.Ю. КУЛЯШ[1], М.И. САБАЕВ, Л.В. ЕРКО

ГУЗ «Саратовский областной кожно-венерологический диспансер»

On the efficacy of and the prospects for the use of the Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test for the diagnostics of neurosyphilis in the Russian Federation

G.YU. KULYASH, M.I. SABAEV, L.V. ERKO

State health facility «Saratov Regional Dermatovenerological Dispensary»

Проведена сравнительная оценка эффективности реакции связывания комплемента (РСК), теста Исследовательской лаборатории венерических заболеваний (VDRL) и реакции микропреципитации с кардиолипиновым антигеном (РМП) при анализе спинномозговой жидкости 100 больных сифилисом. Установлено, что способность РСК, а также VDRL-теста к выявлению позитивных образцов ликвора обследованных пациентов не отличалась, однако превосходила аналогичную способность РМП в 2,4 раза при нейросифилисе с симптомами и в 3,5 раза при асимптомном нейросифилисе. Таким образом, VDRL является простой стандартизированной нетрепонемной реакцией, которая может заменить трудоемкий неунифицированный ликворологический комплекс на основе РСК при лабораторной диагностике нейросифилиса. Тестирование ликвора на основе РМП не эффективно и обусловливает получение ложноотрицательных результатов в РСК- и VDRL-позитивных пробах, что определяет высокий риск ошибочных клинических заключений.

Ключевые слова: нейросифилис, VDRL, РСК, РМП.

The objective of the present study was to compare the efficacy of complement fixation reaction (CFR), Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test, and microprecipitation reaction with cardiolipin antigen (MPR) for the analysis of the cerebrospinal fluid (CSF) obtained from 100 syphilitic patients. It was shown that the efficacy of CFR and VDRL test in terms of identification of positive samples was virtually identical and exceeded that of MRP by 2.4 and 3.5 times for diagnostic of symptomatic neurosyphilis and asymptomatic disease respectively. It is concluded that the VDRL test is a simple standard non-treponemic reaction that may be used instead of the laborious non-standardized liquorological test based on MPR that is routinely used for the laboratory diagnostics of neurosyphilis. MRP-based liquor testing is inefficient and yields frequent false-negative results in the repeated analysis of CFR and VDRL-positive samples. It is therefore fraught with the high risk of diagnostics errors.

Key words: neurosyphilis, CFR, VDRL, MRP.

Сифилис остается одной из наиболее актуальных социально значимых инфекций с высоким уровнем заболеваемости во всех регионах России и преобладанием скрытых вариантов течения [1]. В связи с этим успешность борьбы с ним определяется наличием эффективных и доступных методов лабораторной диагностики. Серологические реакции, регламентированные приказом МЗ РФ №87 от 26.03.01 [2], включают группу нетрепонемных и трепонемных тестов, позволяющих надежно выявлять как ранние, так и поздние формы сифилиса, в том числе и скрытого. Однако лабораторная диагностика нейросифилиса (НС) в настоящее время характеризуется рядом проблем, проявляющихся наиболее остро при подозрении на асимптомное инфицирование центральной нервной системы (ЦНС). Такие разрешенные для ликвородиагностики в России трепонемные реакции, как иммуноферментный анализ (ИФА) и реакция иммунофлюоресценции с цельным ликвором ($РИФ_ц$), обладают высокой чувствительностью и специфичностью в отношении суммарных антител к *Treponema pallidum*. В то же время прямая клиническая интерпретация их позитивности в пользу НС при анализе спинномозговой жидкости (СМЖ) не оправдана, и более информативными признаются отрицательные результаты указанных тестов [3, 4]. Позитивность СМЖ в реакциях связывания комплемента с кардиолипиновым ($РСК_к$) и трепонемным ($РСК_т$) антигенами объективно свидетельствует о НС [5]. Однако данная методология трудоемка, не унифицирована, не при-

© Коллектив авторов, 2012

Klin Dermatol Venerol 2012;2:28

[1]e-mail: lkulyash@yandex.ru

меняется за рубежом многие десятилетия и отменена в Российской Федерации с 2006 г. [2]. Вместо РСК$_к$ и РСК$_т$ в мировой практике для ликвородиагностики НС используют высокоспецифичный кардиолипиновый тест Исследовательской лаборатории венерических заболеваний [4, 6], известный как VDRL (Veneral Diseases Research Laboratories). Следует признать, что в российских дерматовенерологических учреждениях (ДВУ) VDRL фактически не знаком специалистам и до последнего времени не был представлен на рынке диагностических препаратов зарегистрированными отечественными тест-системами (ТС). Важно отметить также, что применение реакции микропреципитации с кардиолипиновым антигеном (РМП) и ускоренного плазмареагинового теста RPR (rapid plasma regain test) не рекомендовано для ликвородиагностики сифилиса [7, 8]. Однако по данным периодической литературы, в 37% ДВУ России используют РМП для тестирования СМЖ при сифилисе [9], тогда как допустимость замены VDRL и РСК на РМП для диагностики НС не была подтверждена результатами опубликованных отечественных исследований.

Цель настоящей работы — сравнительное изучение диагностической эффективности РСК, VDRL и РМП при тестировании СМЖ у больных сифилисом и оценка возможности внедрения простых стандартизированных кардиолипиновых тестов в практику отечественного здравоохранения вместо трудоемкой неунифицированной РСК.

Материал и методы

В период с 2010 по 2011 г. исследовали образцы СМЖ 100 больных сифилисом в возрасте от 20 до 78 лет, проходивших диагностическое обследование и лечение в ГУЗ «Саратовский областной кожно-венерологический диспансер». Основанием для проведения люмбальной пункции являлись наличие у пациентов неврологических симптомов или, в случае их отсутствия, необходимость исключения асимптомного поражения ЦНС при вторичном, скрытом раннем и скрытом позднем сифилисе. Группа сравнения, представленная серонегативными лицами без подозрения на сифилис (здоровыми), отсутствовала, поскольку проведение люмбальных пункций без достаточных клинических оснований не представлялось возможным.

Анализ сывороток крови и ликвора на наличие антикардиолипиновых антител выполняли на основе неунифицированных РМП и РСК$_к$ с применением кардиолипинового антигена для РМП и РСК отечественного производства. В качестве унифицированной ТС, позволяющей определять антикардиолипиновые антитела в СМЖ, использовали VDRL тест для серодиагностики сифилиса (SPINREACT, Испания). Тестирование сыворотки крови и СМЖ на наличие антитрепонемных антител на основе неунифицированной РСК$_т$ проводили с использованием антигена трепонемного ультраозвученного для РСК. Суммарные антитела к *T. pallidum* в сыворотках крови и СМЖ выявляли в сертифицированных ИФА-ТС российского производства. Для дополнительного унифицированного анализа сывороток крови пациентов на наличие антител к возбудителю сифилиса использовали сертифицированную отечественную ТС для РПГА. Все перечисленные методы выполняли в соответствии с протоколами Приказа МЗ РФ №87 [2], а также требованиями инструкций по применению ТС. При этом для РСК использовали цельный ликвор и его разведения 1:2 и 1:5, а для ИФА — ликвор в разведении 1:2 и 4-кратное увеличение концентрации конъюгата.

Белок и цитоз СМЖ, подлежащие обязательному исследованию при диагностике НС в соответствии с Приказом МЗ РФ № 291 от 30.07.01 [10], определяли с применением сертифицированных коммерческих наборов отечественного производства.

Результаты и обсуждение

Анализ историй болезней 100 пациентов больных сифилисом, прошедших плановое специфическое серологическое и ликворологическое обследование, позволил дифференцировать данную группу лиц на больных сифилисом с поражением и без поражения нервной системы (см. таблицу). Все пациенты, включенные в данное исследование, характеризовались серопозитивностью в трепонемных тестах. Выборка больных с клиническим диагнозом НС с симптомами представлена 14, асимптомный НС — 35 пациентами, что в целом отражает вероятность выявления манифестных и неманифестных форм сифилитической нейроинфекции в настоящее время [11, 12]. Известно, что диагностика асимптомного НС является наиболее сложной из-за отсутствия надежных объективных клинических и лабораторных критериев этой формы заболевания [13]. Доступным и достоверным диагностическим критерием НС, в том числе и асимптомного, признается РСК/VDRL-позитивность СМЖ [5, 6]. В связи с этим группа пациентов с асимптомным НС была сформирована только из РСК-СМЖ-позитивных лиц. Другие больные с тем же диагнозом, установленным на основании клинической интерпретации результатов менее объективных ликворологических показателей (ИФА, цитоз и белок), не были включены в исследование.

Болен сифилисом без клинических и лабораторных данных в пользу НС был 51 пациент (вторичным сифилисом кожи и слизистых оболочек — 3, сифилисом скрытым ранним — 14, сифилисом скрытым поздним — 34).

Полученные данные указывают на различную эффективность использованных иммунодиагностических методов анализа СМЖ при НС. При НС с симптомами и при асимптомном НС положительные результаты у всех пациентов (100%) были отмечены только при ИФА, т.е. ни один из пациентов с НС не был ИФА-СМЖ-негативным. Использование РСК$_т$ и РСК$_к$, также регламентированных приказами МЗ РФ №87 и №291 в качестве методов ликвородиагностики при сифилисе, отличалось меньшим количеством положительных результатов. Так, при НС с симптомами в обеих модификациях РСК позитивность СМЖ выявлялась у 85,7% пациентов. При асимптомном НС РСК$_к$ была положительной с ликвором всех 35 (100%) обследованных, тогда как РСК$_т$ позволила установить СМЖ-реактивность у 88,6% пациентов данной группы. Сравнительные исследования СМЖ больных НС с помощью кардиолипиновых тестов, не предусмотренных приказами МЗ РФ №87 и №291 в качестве ликвородиагностических, представлены VDRL производства SPINREACT и РМП на основе кардиолипинового антигена. Следует обратить внимание на то, что только в инструкциях по применению ТС для выполнения VDRL указывается на возможность тестирования и сыворотки крови, и ликвора. В то же время РМП предназначена только для анализа сыворотки или плазмы крови. Установлено, что у больных

Результаты сравнительного исследования СМЖ в нетрепонемных и трепонемных тестах при разных формах сифилиса

Диагноз	Методы исследования СМЖ									
	РСК$_т$		РСК$_к$		VDRL		РМП		ИФА	
	положительных	отрицательных	положительных	отрицательных	положительных	отрицательных	положительных	отрицательных	положительных	отрицательных
Сифилис с поражением нервной системы										
НС с симптомами (n=14)	12 (85,7)	2 (14,3)	12 (85,7)	2 (14,3)	12 (85,7)	2 (14,3)	5 (35,7)	9 (64,3)	14 (100)	0 (0)
Асимптомный НС (n=35)	31 (88,6)	4 (11,4)	35 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	10 (28,6)	25 (71,4)	35 (100)	0 (0)
Сифилис без поражения нервной системы										
Сифилис вторичный (n=3)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	3 (100)	3 (100)	0 (0)
Сифилис скрытый ранний (n=14)	0 (0)	14 (100)	0 (0)	14 (100)	0 (0)	14 (100)	0 (0)	14 (100)	9 (64,3)	5 (35,7)
Сифилис скрытый поздний (n=34)	0 (0)	34 (100)	0 (0)	34 (100)	0 (0)	34 (100)	0 (0)	34 (100)	22 (64,7)	12 (35,3)

Примечание. *n* — количество пациентов. В скобках указаны проценты.

НС с симптомами VDRL-тест позволял выявлять позитивность ликвора с эффективностью 85,7%, а при асимптомном НС — с эффективностью 100%. Аналогичные результаты при обеих формах НС были получены при использовании РСК$_к$ (реакции Вассермана). Как отмечалось выше, эффективность РСК$_т$ при асимптомном НС была меньше, чем при применении реакции Вассермана, а также VDRL и составляла 88,6%. Самую низкую способность к установлению позитивности СМЖ при НС продемонстрировала РМП. Так, в случае НС с симптомами позитивность РМП отмечалась у 35,7% больных, а при асимптомном НС доля СМЖ-позитивных пациентов составляла лишь 28,6%.

Анализ результатов иммунодиагностических ликворологических реакций у больных сифилисом без поражения ЦНС позволил установить, что ни в одном из применявшихся вариантов РСК, VDRL, а также РМП ни у одного из обследованных реактивность СМЖ не была установлена (100% отрицательных заключений). Одновременно у данных пациентов положительные ответы были получены только при использовании ИФА, относящегося к группе высокочувствительных трепонемоспецифических тестов. При этом доля позитивных результатов ИФА при разных формах сифилиса различалась и была наибольшей при вторичном сифилисе (100%). У больных ранним скрытым сифилисом СМЖ-ИФА-позитивность составляла 64,3%, у больных поздним скрытым сифилисом — 64,7%. Важно отметить, что СМЖ-ИФА-позитивные пациенты с вторичным и скрытым сифилисом не имели объективных критериев для установления им диагноза НС, поскольку у них отсутствовала неврологическая симптоматика, ликвор каждого из них в регламентированных иммунодиагностических реакциях (РСК$_{кт}$) был отрицательным, а количественные значения таких стандартных неспецифических СМЖ-маркеров, как белок и цитоз, не свидетельствовали в пользу патологии ЦНС.

Представленные результаты демонстрируют разную эффективность использованных нами иммунодиагностических методов исследования СМЖ при сифилисе, что целесообразно учитывать в практической работе ДВУ и при проведении мероприятий по оптимизации существующих методов диагностики НС в России.

Из применявшихся методов ИФА отличался наибольшей способностью к установлению позитивности образцов СМЖ при всех формах сифилиса. Известно, что специфические IgG при сифилитической нейроинфекции синтезируются в ЦНС локально (интратекально), что имеет важное диагностическое значение [13]. Однако не исключается выявление в СМЖ трепонемоспецифических IgG и при сифилисе без нейроинфекции [13, 14] . Это связано с высокой чувствительностью ТС-ИФА в отношении IgG, которые доминируют во фракции суммарных антител к *T. pallidum* практически на всех стадиях сифилиса и способны проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) из кровотока. Изложенное согласуется с полученными результатами. Максимальные показатели положительных ответов (100%) ИФА-СМЖ были отмечены в обеих группах пациентов с НС. При этом важно указать, что значимость ИФА-СМЖ-позитивности как объективного критерия НС при асимптомном его течении существенно ниже, чем при НС с симптомами [15]. Доля ИФА-СМЖ-позитивных больных сифилисом без поражения ЦНС была максимальной (100%) у пациентов со вторичным периодом заболевания. Группа больных с ранним и поздним скрытым сифилисом характеризовалась менее высоким уровнем ИФА-СМЖ-позитивности (63,4 и 64,7% соответственно). Установленные расхождения относительных показателей ИФА-СМЖ-позитивности могли быть связаны с различиями выраженности специфического гуморального иммунного ответа на разных стадиях сифилиса. Известно, что уровень антикардиолипиновых и антитрепонемных антител в сыворотке крови больных сифилисом наиболее высок во вторичном его периоде и снижается при поздних формах заболевания [7], что может определять разницу в эффективности диффузии специфических IgG крови через ГЭБ. Кроме того, малая выборка пациентов с вторичным сифилисом (3 человека) не исключает получения отрицательных результатов ИФА-СМЖ в более крупных группах обследуемых, в которых фактор индивидуальной вариабельности интенсивности иммунного ответа проявляется сильнее.

Как следует из представленных данных, положительные результаты ликвородиагностики на основе трепонемного ИФА могут определяться и при НС, и при сифилисе

без поражения нервной системы, что существенно ограничивает информативность ИФА-СМЖ-позитивности. В отличие от позитивности ИФА позитивность нетрепонемных РСК$_к$ и VDRL с ликвором прямо указывают на сифилитическую нейроинфекцию [5, 6]. Это определяет особую значимость кардиолипиновых тестов в диагностике НС, а также необходимость обоснованного выбора наиболее простых и надежных нетрепонемных реакций для использования в здравоохранении. Выше отмечалось, что именно VDRL-тест является мировым стандартом рутинного анализа СМЖ на наличие реагиновых антител [4, 6], однако он фактически не применяется в Российской Федерации, где основой ликвородиагностики сифилиса остается более трудоемкий и неунифицированный комплекс РСК$_{кт}$ [9]. При НС с симптомами РСК и VDRL выявляли позитивность ликвора у 85,7% обследованных, что согласуется с данными о варьировании чувствительности теста VDRL в пределах 27,0—91,7% [6, 16, 17]. Как уже было отмечено, группа больных асимптомным НС была сформирована только из РСК-СМЖ-позитивных пациентов, что снижало роль субъективных факторов на стадии вынесения данного клинического диагноза. В связи с этим представленная в таблице 100% СМЖ-позитивность РСК$_к$ и VDRL при асимптомном НС не отражает их истинной чувствительности, установление которой не представлялось возможным из-за отсутствия доступных методов прямого подтверждения инфицирования ЦНС больных *T. pallidum* и не являлось целью данного исследования. Главным результатом проведенной работы стало получение информации о том, что чувствительность VDRL-теста не уступает чувствительности РСК$_к$, превышает диагностические возможности РСК$_т$ и тем более РМП. Способность последней к выявлению позитивных проб СМЖ в сравнении с РСК$_к$ и VDRL была в 2,4 раза меньше при НС с симптомами и в 3,5 раза ниже при асимптомном НС.

Использование РСК, VDRL и РМП в группе больных сифилисом без поражения нервной системы не позволило выявить ни одного позитивного образца СМЖ. В совокупности с данными об отсутствии неврологической симптоматики, а также патологических значений цитоза и белка в ликворе обследованных, это подтверждает специфичность всех реакций на основе кардиолипинового антигена при диагностике НС. Бесспорно, что именно данное качество нетрепонемных СМЖ-тестов определяет высокий диагностический статус их позитивных ответов в отличие от позитивных результатов трепонемных реакций, в том числе и ИФА, способных к выявлению специфических антител в ликворе и при НС, и при сифилисе без поражения ЦНС.

Таким образом, проведенное нами исследование продемонстрировало равную диагностическую эффективность регламентированного в России ликворологического комплекса на основе РСК и широко применяемого в мировой практике теста VDRL. Принимая во внимание неунифицированность этапов постановки и трудоемкость РСК, следует признать целесообразность замены данного метода на нетрудоемкий стандартизированный VDRL, производящийся в удобном формате ТС со всеми необходимыми реагентами, включая положительный и отрицательный контроли. Несмотря на сходство кардиолипинового антигена, используемого для VDRL и РМП, применение последнего для диагностики НС недопустимо ввиду высокой вероятности получения ложноотрицательных результатов в тех случаях, когда сифилитическое поражение ЦНС может быть подтверждено в тесте VDRL.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кубанова А.А., Лесная И.Н., Кубанов А.А. и др.* Анализ эпидемиологической ситуации и динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, и дерматозами на территории Российской Федерации. Вестн дерматол и венерол 2010; 5: 4—21.
2. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №87 от 26.03.01. «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса». М 2001.
3. Лабораторная диагностика сифилиса. Методические рекомендации. Под ред. Е.В. Соколовского и др. СПб: Н-Л 2009.
4. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 2002; 51: RR—6: 1—78.
5. Клинические рекомендации. Дерматовенерология. Под ред. А.А. Кубанова. М: ДЭКС-ПРЕСС 2007.
6. *Марра К.* Нейросифилис. ИППП 2004; 4: 7—11.
7. *Дмитриев Г.А., Глазко И.И.* Диагностика инфекций, передаваемых половым путем. М: Бином 2007.
8. 1998 Guidelines for treatment of Sexually transmitted diseases. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 1998; 47: RR—1:1—111.
9. *Катунин Г.Л., Фриго Н.В., Ротанов С.В. и др.* Анализ заболеваемости и качества лабораторной диагностики нейросифилиса в Российской Федерации. Вестн дерматол и венерол 2011; 3: 18—26.
10. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №291 от 30.07.01 «О мерах по предупреждению распространения инфекций, передаваемых половым путем». М 2001.
11. *Кузнецова Н.П., Чащин А.Ю., Долженицина Н.А., Афанасьева И.Г.* Эпидемиологическая и клиническая характеристика нейросифилиса в Иркутской области. I Всероссийский конгресс дерматовенерологов: Тезисы научных работ. Казань 2009; 13.
12. *Новиков Ю.А., Новиков А.И., Чермошенцев А.А. и др.* Опыт диагностики нейросифилиса в Омской области за период 2007—2009 гг. Всероссийский конгресс дерматовенерологов, 3-й: Тезисы научных работ. Казань 2009; 94—95.
13. *Kotnik V., Jordan K., Stopinsek S. et al.* Intrathecal antitreponemal antibody synthesis determination using the Inno-Lia™ Syphilis Score. Acta Dermatoven APA 2007; 16: 4: 135—141.
14. *Smikle M.F., James O.B., Prabhakar P.* Diagnosis of neurosyphilis: a critical assessment of current methods. South Med J 1988; 81: 4: 452—454.
15. *Куляш Г.Ю.* Диагностика нейросифилиса: проблемы трактовки результатов лабораторных исследований. Клин дерматол и венерол 2011; 4: 6—14.
16. *Luger A.F., Schmidt B.L., Kaulich M.* Significance of laboratory findings for the diagnosis of neurosyphilis. Int J STD AIDS 2000; 11: 4: 224—234.
17. *Davis L.E., Schmitt J.W.* Clinical significance of cerebrospinal fluid tests for neurosyphilis. Ann Neurol 1989; 25: 1: 50—55.