

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

**Syfilis: laboratorní diagnostika a terapie**

Martina Čermáková

Bakalářská práce

2015

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2014/2015

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martina Čermáková**  
Osobní číslo: **C12212**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Syfilis: laboratorní diagnostika a terapie**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Vypracujte literární rešerši obsahující:

1. Charakteristiku původce onemocnění
  2. Antigenní vlastnosti a faktory virulence původce syfilis
  3. Epidemiologii a patogenezi uvedeného onemocnění
  4. Laboratorní diagnostiku syfilis
  5. Možnost terapie a prevence
-

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**

Vedoucí bakalářské práce:

**Mgr. Radek Sleha**

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **12. prosince 2014**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. července 2015**

  
prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.  
děkan

L.S.

  
prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 27. února 2015

---

**Prohlašuji:**

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 13. 7. 2015

.....  
Martina Čermáková

## **Poděkování**

Tímto bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce panu Mgr. Radku Slehovi za jeho odbornou pomoc, cenné rady a poskytnuté materiály, které mi pomohly při zpracování bakalářské práce.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce se zabývá bakterií *Treponema pallidum*, která je původcem syfilis, sexuálně přenosného onemocnění. Pozornost je věnována charakterizaci bakterie, kdy jsou uvedeny informace o její taxonomii, morfologii a patogenezi. V práci jsou také shrnuty dostupné informace o výskytu a onemocnění, která uvedené agens způsobuje. Současně jsou zmíněny postupy laboratorní diagnostiky, možnosti terapie a prevence.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

*Treponema pallidum*, syfilis, laboratorní diagnostika, terapie a prevence

## **TITLE**

Syphilis: laboratory diagnosis and therapy

## **ANNOTATION**

Bachelor thesis deals with bacteria *Treponema pallidum*, which is the causative agent of syphilis, sexually transmitted disease. Attention is paid to the characteristics bacteria which provides information on the taxonomy, morphology and pathogenesis. This work summarizes available information on diseases caused by this bacterium. Thesis also mentions the method of identification, therapy and prevention.

## **KEYWORDS**

*Treponema pallidum*, syphilis, laboratory diagnosis, therapy and prevention

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>ETIOLOGIE .....</b>	<b>13</b>
2.1	HISTORICKÉ ZMÍNKY O SYFILIS .....	13
2.2	TAXONOMICKÁ KLASIFIKACE .....	14
<b>3</b>	<b>CHARAKTERISTIKA <i>T. PALLIDUM</i> .....</b>	<b>16</b>
3.1	STRUKTURA A MORFOLOGIE .....	16
3.2	GENETICKÁ INFORMACE <i>T. PALLIDUM</i> .....	17
3.3	CITLIVOST K VNĚJŠÍM PODMÍNKÁM .....	18
3.4	ANTIGENNÍ STRUKTURA.....	18
3.5	FAKTORY VIRULENCE .....	20
3.5.1	<i>Tpr</i> proteiny .....	21
3.5.2	<i>Hemolyziny</i> .....	22
3.5.3	<i>Regulátory</i> .....	22
<b>4</b>	<b>ONEMOCNĚNÍ VYVOLANÁ <i>T. PALLIDUM</i>.....</b>	<b>23</b>
4.1	VÝSKYT A ZPŮSOB PŘENOSU .....	23
4.1.1	<i>Způsob přenosu</i> .....	23
4.1.2	<i>Výskyt</i> .....	23
4.2	PATOGENEZE .....	26
4.3	KLINICKÉ PROJEVY .....	27
4.3.1	<i>Primární syfilis</i> .....	28
4.3.2	<i>Sekundární syfilis</i> .....	29
4.3.3	<i>Latentní syfilis</i> .....	30
4.3.4	<i>Terciární syfilis</i> .....	31
4.3.5	<i>Vrozená syfilis</i> .....	32
4.3.6	<i>Koinfekce HIV a syfilis</i> .....	33
<b>5</b>	<b>TERAPIE A PREVENCE.....</b>	<b>35</b>
5.1	TERAPIE .....	35
5.2	PREVENCE.....	37
<b>6</b>	<b>LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA .....</b>	<b>39</b>
6.1	KLINICKÝ MATERIÁL .....	40
6.2	METODY PŘÍMÉ.....	40

6.2.1	<i>Mikroskopie v zástinu</i> .....	41
6.2.2	<i>Molekulárně biologická diagnostika</i> .....	42
6.2.3	<i>Přímá imunofluorescence</i> .....	43
6.2.4	<i>Histologické metody</i> .....	43
6.2.5	<i>Inokulace zvířecímu hostiteli</i> .....	44
6.3	<b>METODY NEPŘÍMÉ</b> .....	44
6.3.1	<i>Netreponemové reakce</i> .....	45
6.3.2	<i>Treponemové reakce</i> .....	46
6.3.3	<i>Interpretace serologických testů pro průkaz <i>T. pallidum</i></i> .....	50
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>52</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM LITERATURY</b> .....	<b>53</b>



## SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

<b>Tabulka 1</b> Taxonomická klasifikace <i>T. pallidum</i> .....	14
<b>Tabulka 2</b> Globální odhady incidence STI pro roky 2005 a 2008 (v milionech případů).....	24
<b>Tabulka 3</b> Aplikace a omezení diagnostických testů v různých fázích syfilis .....	39
<b>Obrázek 1</b> Elektronová mikroskopie <i>T. pallidum</i> .....	17
<b>Obrázek 2</b> Současný model molekulární architektury <i>T. pallidum</i> .....	20
<b>Obrázek 3</b> Stádia syfilis a serologie .....	27
<b>Obrázek 4</b> Průběh neléčené syfilis .....	28
<b>Obrázek 5</b> Tvrdý vřed na penise.....	29
<b>Obrázek 6</b> Gummata na noze .....	32
<b>Obrázek 7</b> Prevalence rezistentních kmenů <i>T. pallidum</i> k makrolidům ve světě.....	37
<b>Obrázek 8</b> <i>T. pallidum</i> v temném poli .....	42
<b>Obrázek 9</b> <i>T. pallidum</i> ve světelém mikroskopu po obarvení stříbrem.....	43
<b>Obrázek 10</b> Detekce protilátek v treponemových a netreponemových testech.....	45
<b>Obrázek 11</b> Pozitivní výsledek testu FTA-ABS.....	49
<b>Obrázek 12</b> Poloha charakteristických pruhů 15,5 kDa, 17 kDa, 44,5 kDa a 47 kDa ve westernblotu.....	50

## SEZNAM ZKRATEK

<b>AMP</b>	adenosinmonofosfát
<b>BPG</b>	benzathin penicilin G
<b>CNS</b>	centrální nervový systém
<b>CSF</b>	mozkomíšní mok (z angl. Cerebro-Spinal Fluid)
<b>ČR</b>	Česká republika
<b>CDC</b>	Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí (z angl. Centers for Disease Control and Prevence)
<b>CLIA</b>	chemiluminiscenční imunoanalýza
<b>DFA-TP</b>	přímý fluorescenční test na protilátky proti <i>T. pallidum</i> (z angl. Direct fluorescent antibody test for <i>T. pallidum</i> )
<b>DNA</b>	deoxyribonukleová kyselina (z angl. Deoxyribonucleic Acid)
<b>EIA</b>	enzymo-imuno metoda (z angl. Enzyme Immuno Assay)
<b>ELISA</b>	imunoenzymatické stanovení protilátek (z angl. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
<b>FTA-ABS</b>	fluorescenční - absorpční test (z angl. Fluorescent Treponemal Antibody – Absorption)
<b>G+C</b>	guanin a cytosin
<b>HIV</b>	virus lidské imunodeficiency (z angl. Human Immunodeficiency Virus)
<b>IgG</b>	imunoglobulin třídy G
<b>IgM</b>	imunoglobulin třídy M
<b>IgA</b>	imunoglobulin třídy A
<b>IUD</b>	injekční uživatelé drog
<b>kDa</b>	kilodalton
<b>MHA-TP</b>	microhaemaglutinace <i>T. pallidum</i> (z angl. Microhemagglutination Assay for Antibodies to <i>T. pallidum</i> )
<b>MSM</b>	muži mající sex s muži (z angl. Men Who Have Sex With Men)

<b>NADH</b>	nikotinamidadenindinukleotid
<b>OMPs</b>	proteiny vnější membrány (z angl. Outer Membrane Proteins)
<b>PBP</b>	penicilin vázající protein (z angl. Penicillin Binding Protein)
<b>PCR</b>	polymerázová řetězová reakce (z angl. Polymerase Chain Reaction)
<b>RIT</b>	izolace na králíkovi (z angl. Rabbit Infectivity Testing)
<b>RRR</b>	rychlá reaginová reakce (z angl. Rapid Reagin Reaction)
<b>RPR</b>	rapid plasma reagin
<b>STI</b>	sexuálně přenosné infekce (z angl. „Sexually Transmitted Infections“)
<b>SZÚ</b>	Státní zdravotní ústav
<b>T.</b>	<i>Treponema</i>
<b>TPHA</b>	<i>T. pallidum</i> hemaglutinační test (z angl. <i>T. pallidum</i> Hemagglutination Assay)
<b>TPPA</b>	<i>T. pallidum</i> Particle Agglutination Assay
<b>Tromp-1</b>	treponemal rare outer membrane protein-1
<b>Tpr</b>	<i>Treponema pallidum</i> repeat
<b>TprC</b>	<i>Treponema pallidum</i> repeat protein C
<b>TprD</b>	<i>Treponema pallidum</i> repeat protein D
<b>TprF</b>	<i>Treponema pallidum</i> repeat protein F
<b>TprI</b>	<i>Treponema pallidum</i> repeat protein I
<b>TprK</b>	<i>Treponema pallidum</i> repeat protein K
<b>USA</b>	Spojené státy americké (z angl. United States of America)
<b>ÚZIS</b>	Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR
<b>WHO</b>	Světová zdravotnická organizace (z angl. World Health Organization)
<b>VDRL</b>	Veneral Disease Research Laboratory

# 1 ÚVOD

*Treponema pallidum* ssp. *pallidum* je původcem syfilis, sexuálně přenosného onemocnění s více než 12 miliony nových případů na celém světě každý rok. Syfilis je v současné době významným problémem veřejného zdraví. Včasná diagnóza a rychlá léčba jsou důležité k omezení klinických účinků.

Na samém konci 15. století se objevila nová nemoc, která v Evropě propukla ve formě zhoubné pandemie. Zpočátku se ani nevědělo, že se jedná o pohlavní chorobu a lidé ji považovali spíše za boží trest. Bez ohledu na její původ, se tato nemoc šířila Evropou velkou rychlostí. K jejímu rozšíření přispěly i války a následné cestování vojenského personálu. Vzhledem k širokému rozšíření se tomuto infekčnímu onemocnění dostalo nejrůznějšího pojmenování (např. francouzská nemoc, neapolská, německá, italská či polská nemoc). Novodobý název syfilis pochází z díla Girolama Fracastora, který roku 1530 vydal báseň „*Syphilis sive morbus gallicus*“ (v překladu: Syfilis nebo francouzská nemoc). V básni opěvuje pastevce Syphila potrestaného Apollonem nemocí za to, že nestavěl oltáře bohům, ale svému králi. Český název příjice pochází od pražského profesora porodnictví A. Jungmanna, který název odvodil od bohyně lásky Prije.

Syfilis je celosvětově rozšířené infekční onemocnění, postihující různé orgány včetně kůže, oběhového, svalového, kosterního a centrálního nervového systému. Zvláštní význam pro celosvětové zdraví je poznání, že syfilis výrazně zvyšuje riziko přenosu viru lidské imunodeficiency asi 2-5krát.

Před příchodem antibiotik byla syfilis jedna z nejčastějších infekcí postihující až 10 % dospělé populace v západním světě. Syfilis patří mezi první infekci, která byla úspěšně léčena antibiotiky. Jako lék na syfilis se nejčastěji používá penicilin. V případě alergie na penicilinová antibiobiotika se používají makrolidy či tetracykliny. I když je penicilin stále účinné antibiotikum, u *T. pallidum* se objevila významná rezistence na makrolidy. Tyto rezistentní kmeny *T. pallidum* nyní převládají v několika vyspělých zemích.

Tato bakalářská práce je zaměřena především na obecnou charakteristiku bakterie včetně patogeneze. Práce rovněž obsahuje možnosti laboratorní diagnostiky, která je založena především na serologickém vyšetření, dále prevenci a terapii.

## 2 ETIOLOGIE

### 2.1 Historické zmínky o syfilis

Od 15. století, kdy byla syfilis uznána jako nová nemoc, se onemocnění stalo předmětem velkého tajemství a legend (LaFond a Lukehart, 2006). V roce 1905 F. R. Schaudinn a P. E. Hoffmann prokázali spirochety v nátěrech obarvených dle Giemsky ze syfilitických lezí (Powers-Fletcher, 2011). Bakterii spirálového tvaru pojmenovali *Spirochaeta pallidum*, dnes známou jako *T. pallidum* (Souza, 2005).

Původ syfilitidy v Evropě je vykládán dvojím způsobem - zavlečením z Ameriky Kolumbovými námořníky nebo vývinem venerické syfilis z podobné endemické formy, která existovala již po staletí na Blízkém východě a ve východní Evropě. Na základě molekulárně genetických studií je pravděpodobné, že se venerická syfilis vyvinula z frambézie a do Evropy byla pravděpodobně zavlečena z Ameriky Kolumbovými námořníky (Harper *et al.*, 2008).

Od roku 1495 se syfilis začala šířit po celé Evropě. První zmínky o epidemii syfilis se objevují v roce 1494 během francouzské invaze do Itálie. Armáda, složená převážně z žoldáků, se předtím plavila s Kolumbem do Ameriky. Krátce po invazi se armáda rozpadla, vojáci se vrátili do svých domovů a šířili onemocnění. V roce 1500 byla syfilitida rozšířena po celé Evropě. Vzhledem k tomu, že epidemie následovala rychle po návratu Kolumba a jeho mužů z Nového světa, existuje teorie, že nemoc vznikla právě v Americe. Někteří badatelé však argumentovali pro předkolumbovskou přítomnost syfilitidy ve Starém světě. Ve 20. století vznikla kritika kolumbovské hypotézy (Harper *et al.*, 2011). Není totiž jasné, zda se ve všech případech skutečně jednalo o syfilis, v mnoha případech byla nemoc nejspíše zaměňována s malomocentsvím (Kuklová, 2012).

Klíčovou roli při řešení otázky obklopující původ syfilis hraje paleontologie (Harper *et al.*, 2008). Terciární stádium syfilis zanechává na kostře charakteristické patologické změny. Radiokarbonové datování spolu s několika dalšími moderními prostředky ukázalo, že všechny kosterní pozůstatky s konkrétními luetickými lézemi se nevyskytovaly dříve než v roce 1492. Na druhou stranu, ne na všech částech skeletu se jednalo zrovna o syfilis. Nicméně u 16 kostí se dokázal předkolumbovský původ pomocí moderních datovacích metod (Tampa *et al.*, 2014). Harper *et al.* (2011) uvádí, že všechny tyto kostry byly umístěny v pobřežních oblastech v Evropě, kde mořské plody představovaly důležitou součást stravy obyvatel. Mořské plody obsahovaly starší uhlík ze dna oceánu, který ovlivňoval uhlíkové datování. Poté, co byly

provedeny opravy a adekvátní úpravy, mohlo být prokázáno, že kostlivci ve skutečnosti nemohli být datováni do období před Kolumbovým návratem do Evropy, jak bylo dříve uvažováno (Harper *et al.*, 2011; Tampa *et al.*, 2014)

Na rozdíl od Evropy, americký kontinent byl schopen předložit jasné důkazy podporující existenci syfilis v předkolumbovském období. Kosterní léze charakteristické pro diagnózu syfilis byly identifikovány v různých oblastech předtím, než Kolumbus objevil Ameriku. Kromě toho, radiokarbonové datování úlomků kostí ukázalo jejich stáří i několik tisíc let (Tampa *et al.*, 2014)

Mezi nejvíce postiženými onemocněním syfilis byli spisovatelé vzhledem k jejich promiskuitnímu a bohémскому životu (Tampa *et al.*, 2014). Podezření na syfilis se objevilo u mnohých českých a zahraničních umělců, jako např. Jaroslav Vrchlický, Bedřich Smetana, Josef Mánes, Ludwig van Beethoven, Nicolo Paganini a Oscar Wild. Nemoc výrazně ovlivnila jejich chování a smýšlení, zejména v konečném stádiu. K obětem syfilis patří i řada osobností z českých zemí - vévoda Albrecht z Valdštejna nebo císař Rudolf II.

## 2.2 Taxonomická klasifikace

Původce syfilis patří mezi spirochety, jež zahrnují skupinu významných bakterií. Tyto organismy způsobují onemocnění u lidí i u zvířat (Li *et al.*, 2000). Nejdůležitější patogenní druh pro člověka z rodu *Treponema* je bakterie *Treponema (T.) pallidum* ssp. *pallidum*. Její taxonomické zařazení je následující:

**Tabulka 1** Taxonomická klasifikace *T. pallidum* (Hluska, 2006; Sedláček, 2007)

<b>Doména:</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Kmen:</b>	<i>Spirochaetes</i>
<b>Třída:</b>	<i>Spirochaetes</i>
<b>Řád:</b>	<i>Spirochaetales</i>
<b>Čeleď:</b>	<i>Spirochaetaceae</i>
<b>Rod:</b>	<i>Treponema</i>
<b>Druh:</b>	<i>T. pallidum</i>
<b>Poddruh:</b>	<i>T. pallidum</i> ssp. <i>pallidum</i>

Kmen *Spirochaetes* se vyznačuje jedinečnou morfologií svých zástupců. Kmen *Spirochaetae* zahrnuje jednu třídu *Spirochaetes* s jedním řádem *Spirochaetales*. Tento řád je tvořen třemi čeleděmi *Spirochaetaceae*, *Brachyspiraceae* a *Leptospiraceae*. Treponemata jsou řazena do čeledi *Spirochaetaceae*, která obsahuje také rody *Borrelia*, *Spirochaeta*, *Cristispira*, *Spironema* a *Brevinema* (Sedláček, 2007).

Rod *Treponema* zahrnuje několik primárních lidských patogenů, která jsou řazena do druhu *T. pallidum*. Tento druh zahrnuje několik poddruhů, zejména *T. pallidum* způsobující syfilis, *T. endemicum* způsobující endemickou syfilis, *T. pertenuae* způsobující frambézii a *T. carateum* zodpovědnou za kožní onemocnění tzv. pintu (Stamm, 2010). Genetické analýzy těchto patogenů odhalily nápadnou podobnost mezi uvedenými bakteriemi a také vysoký stupeň podobnosti s králičím patogenem *T. paraluisuniculi*, který ale pro člověka není infekční (Šmajš *et al.*, 2012). Infekce způsobené *T. pertenuae* a *T. endemicum* jsou běžně označovány jako endemické treponematosy. Zatímco frambézie se nachází v teplých vlhkých klimatech, endemická syfilis se nachází v sušších klimatických podmínkách. V obou případech se infekce šíří přímým kontaktem (Štaudová *et al.*, 2014). Oportunní patogen *T. denticola* a některé další druhy ústních treponemat jsou spojovány s parodontózou (Stamm, 2010).

### 3 CHARAKTERISTIKA *T. PALLIDUM*

#### 3.1 Struktura a morfologie

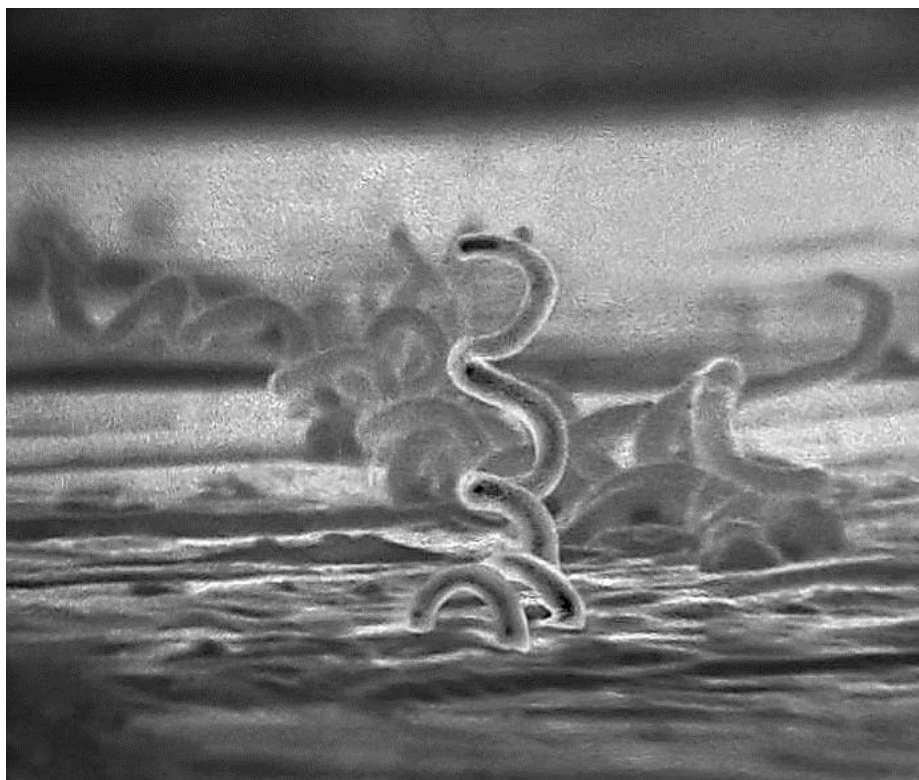
*T. pallidum*, patřící do čeledi *Spirochaetaceae*, je vláknitá mikroaerofilní bakterie s charakteristickým helikálním tvarem. Délka buňky se pohybuje v rozmezí 6 až 15  $\mu\text{m}$  a šířka okolo 0,2  $\mu\text{m}$  (LaFond a Lukehart, 2006). Tělo je stočeno do 6-14 závitů (Cohen *et al.*, 2013).

Spirálovité tělo *T. pallidum* je obklopeno cytoplasmatickou membránou, která je uzavřena volně přidruženou vnější membránou. Tenká vrstva peptidoglykanu mezi membránami zajišťuje strukturní stabilitu a zároveň umožňuje pružnost (LaFond a Lukehart, 2006; Liu *et al.*, 2010; Powers-Fletcher, 2011). Vnější membrána *T. pallidum* postrádá lipopolysacharid, což je silný modulátor zánětu a obsahuje velmi malé množství transmembránových proteinů, přibližně 100krát méně než u jiných spirochet a gramnegativních bakterií (Norris *et al.*, 2001; Peeling a Hook, 2006; Dickerson *et al.*, 2012). I když toho není mnoho známo o membránových proteinech *T. pallidum*, mají velký potenciál být faktory virulence (Peeling a Hook, 2006). *T. pallidum* dokáže unikat imunitní odpovědi napadeného organismu, což vede k přetrvávání v hostiteli několik let či dokonce desetiletí (Šmajš *et al.*, 2012).

V periplazmatickém prostoru mezi membránami jsou umístěny periplazmatické bičíky (endoflagella), které jsou ukotveny na koncích buňky a zapříčiňují rychlý vývrtkovitý pohyb treponemat (LaFond a Lukehart, 2006). Bičíková vlákna se skládají z několika hlavních proteinů. Bičík tvoří jeden protein pochvy (FlaA) a tři dřevňové proteiny (FlaB1, FlaB2 a FlaB3) (LaFond a Lukehart, 2006; Liu *et al.*, 2010).

Studium této bakterie a patogeneze syfilis je komplikováno skutečností, že *T. pallidum* dosud nebyla kultivována nepřetržitě *in vitro*, i když bylo dosaženo pokroku při množení v tkáňových kulturách (Peeling a Hook, 2006; Norris *et al.*, 2001). Při výzkumu se proto musí spoléhat na očkování králíků a jiných zvířat (Norris *et al.*, 2001). *T. pallidum* nemůže být vizualizována za použití běžné světelné mikroskopie, alternativní metodou je mikroskopie v temném poli (Powers-Fletcher, 2011).





**Obrázek 1** Elektronová mikroskopie *T. pallidum* (převzato z: <http://phil.cdc.gov>)

### 3.2 Genetická informace *T. pallidum*

Kompletní sekvence genomu *T. pallidum* (kmene Nichols) byla stanovena v roce 1998, krátce po kompletní genomové sekvenci *Borrelia burgdorferi* B31. Genom se skládá z jednoho cirkulárního DNA chromozomu o velikosti asi 1,14 Mb (Norris *et al.*, 2001). Tento genom obsahuje 52,8 % G+C a 1090 genů, jež kódují 1014 proteinů. Tyto proteiny představují 92,9 % z celkové genomové DNA (Norris *et al.*, 2001; Sinha *et al.*, 2015). Jen málo bakterií má genom menší než *T. pallidum*, který se proto řadí mezi jeden z nejmenších (LaFond and Lukehart, 2006).

V posledních několika letech byly stanoveny kompletní genomové sekvence dalších 4 kmenů *T. pallidum* (SS14, DAL-1, Chicago, Mexico A) (Štaudová *et al.*, 2014).

Sekvenování genomu odhalilo, že *T. pallidum* má pozoruhodný nedostatek metabolických schopností. *T. pallidum* má geny kódující enzymy zapojené do glykolýzy, ale postrádá cyklus trikarboxylových kyselin a respirační řetězec. Analýza genomu naznačuje i absenci biochemických cest, umožňujících *de novo* syntézu některých kofaktorů a nukleotidů. Dráhy pro syntézu aminokyselin a mastných kyselin rovněž chybí (LaFond a Lukehart, 2006; Ho a Lukehart, 2011). *T. pallidum* může použít několik sacharidů jako zdrojů energie, včetně

glukózy, galaktózy, maltózy a glycerolu. Experimentální důkaz prokázal, že pouze glukóza, mannóza a maltóza podporují množení *T. pallidum* v tkáňové kultuře. Není známo, zda *T. pallidum* používá aminokyseliny jako zdroj uhlíku a energie. Nicméně nedostatek katabolických a anabolických dráh naznačuje, že je to málo pravděpodobné (Fraser *et al.*, 1998).

*T. pallidum* je mikroaerofilní a roste jen při snížené koncentraci molekulárního kyslíku. Na rozdíl od *Borrelia burgdorferi*, která je také mikroaerofilní, *T. pallidum* zřejmě chybí geny pro superoxidodismutázu, katalázu a peroxidázu, které chrání před toxickým kyslíkem. *T. pallidum* může využívat kyslík jen díky enzymu NADH oxidáze (Fraser *et al.*, 1998). Kvůli těmto omezením organismus není schopen syntetizovat živiny, které vyžaduje, a proto je *T. pallidum* zcela závislá na svém hostiteli (Powers-Fletcher, 2011).

### 3.3 Citlivost k vnějším podmínkám

*T. pallidum* je velmi choulostivá bakterie. Lze ji snadno zabít sušením nebo zahříváním při 41-42°C po dobu 60 minut nebo při 1-4°C po dobu 1-3 dnů. *T. pallidum* je také snadno inaktivována při styku s destilovanou vodou, mýdlem, sloučeninami arsenu, bismutu, rtuti a běžnými antiseptiky. Kmen *T. pallidum* může být zachován v laboratořích mnoha způsoby. Organismus lze skladovat ve zmraženém stavu v médiu obsahující 5 % glycerol při -70°C nebo v kapalném dusíku při -130°C po dobu 10-15 let (Parija, 2009).

### 3.4 Antigenní struktura

*T. pallidum* se uspořádáním vnější membrány odlišuje od stavby běžných gramnegativních bakterií. Specifické treponemové antigeny jsou exponovány na zevním povrchu tohoto mikroorganismu velmi zřídka (Woznicová, 2007). Nedostatek antigenů na povrchu bakterie může být jedním z mechanismů, který hraje roli ve schopnosti *T. pallidum* vyhnout se imunitní odpovědi a také ve schopnosti vytvořit chronickou infekci (Dickerson *et al.*, 2012). Dokud je ale zevní membrána *T. pallidum* intaktní, jsou imunogeny pod povrchem zevní membrány v podstatě skryté a protilátkami nedosažitelné (Votava *et al.*, 2003).

Proteiny vnější membrány (OMPs) jsou rozděleny podle své funkce na adhesiny, poriny a proteiny s další funkcí (Cullen *et al.*, 2004).

V patogenezi mikrobiálních infekcí, zejména těch, které jsou způsobeny extracelulárními patogeny odpovědnými za systémová onemocnění, hraje důležitou roli kolonizace (Ke *et al.*, 2015). Bakteriální proteiny, glykokonjugáty nebo lipidy, které spouští kolonizaci zprostředkováním adheze mezi bakteriálním a hostitelským povrchem buňky jsou nazývány adhesiny. Tyto adhesiny mají afinitu pro konkrétní receptory hostitelské buňky, plazmatické bílkoviny nebo komponenty extracelulární matrix. Aby došlo k zahájení infekce, musí adherovat na tkáň hostitele a zabránit obranným mechanismům hostitele (Cullen *et al.*, 2004).

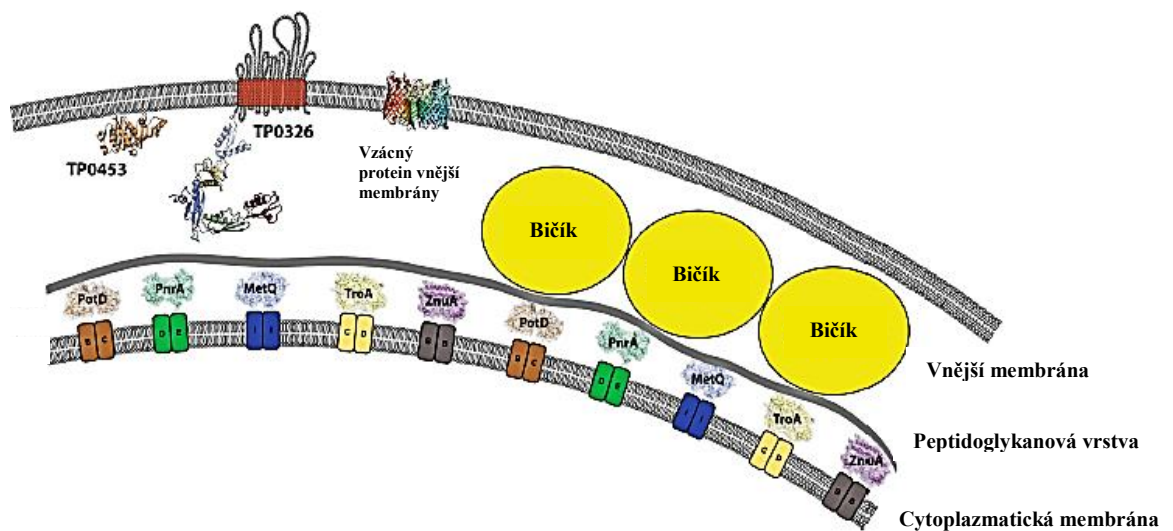
Významnou součástí hostitelské extracelulární matrix je fibronectin a laminin. Jedno možné vysvětlení pro sklon *T. pallidum* obcházet škodlivé účinky protilátek a imunitních efektorových buněk je, že se na fibronectin mohou vázat antigeny *T. pallidum* (Dickerson *et al.*, 2012). Dva vnější membránové proteiny Tp0483 a Tp0155 z *T. pallidum* byly identifikovány jako fibronectin vázající proteiny (Cameron *et al.*, 2004; Tomson *et al.*, 2007; Dickerson *et al.*, 2012). Brinkman *et al.* (2008) identifikovali třetí předpokládaný membránový protein (TP0136), který vykazuje podobnou afinitu pro komponenty extracelulární matrix (fibronectin a laminin) (Brinkman *et al.*, 2008; Dickerson *et al.*, 2012; Ke *et al.*, 2015). Tp0483, Tp0155 a TP0136 jsou schopny vázat nerozpustný fibronectin, pouze Tp0483 ukázal afinitu pro rozpustnou formu fibronectinu. Patogenní výhoda vazby na rozpustný fibronectin stále zůstává nejasná. Dickerson *et al.* (2012) ve své publikaci předpokládají, že rozpustný fibronectin je vázán, aby se zakryly exponované antigenní cíle. Tato vlastnost se označuje jako antigenní přestrojení (Dickerson *et al.*, 2012).

Vysokou vazebnou aktivitu k lamininu prokázal i protein Tp0751, známý jako pallilysin (Cameron, 2003; Houston *et al.*, 2011; Houston *et al.*, 2012). Bylo prokázáno, že zprostředkovává přichycení buněk exprimující laminin. Protilátky specifické pro Tp0751 inhibovaly upevnění *T. pallidum* k lamininu, což potvrzuje totožnost tohoto proteinu jako adhesinu (Cameron *et al.*, 2005). Nedávné studie dokázaly, že pallilysin je také schopen specifické vazby na lidský fibrinogen, což je klíčová strukturální bílkovina při srážení krve. Tím, že je pallilysin schopný vázat a degradovat lidský fibrinogen a laminin, může hrát velkou roli v šíření *T. pallidum* (Houston *et al.*, 2012).

Poriny představují transportní proteiny, které umožňují pasivní difúzi rozpuštěných látek přes vnější membránu. Poriny často mají i jiné funkce, např. mohou aktivovat hostitelské signální dráhy, sloužit jako adheziny nebo působit jako receptory pro bakteriofágy. Bylo prokázáno, že hrají i důležitou roli v antimikrobiální rezistenci. Poriny také aktivují komplement, modulují zánětlivé a imunologické odpovědi (Cullen *et al.*, 2004). Jedním

z porinů *T. pallidum* byl identifikován Tromp-1 o velikosti 30 kDa. Předpokládá se, že jeho další funkcí je přilnavost na základě sekvenční identity s rodinou streptokokových adhesinů (Cullen *et al.*, 2004).

Nicméně studie zaměřené na identifikaci proteinů podílejících se na patogenezi *T. pallidum* jsou omezené, v důsledku skutečnosti, že mikrob je obligátní lidský patogen a nemůže být dlouhodobě kultivován *in vitro* (Houston *et al.*, 2011). Ačkoli už mnoho proteinů bylo izolováno z *T. pallidum*, přesná úloha těchto proteinů v patogenezi onemocnění stále zůstává nejasná (Parija, 2009).



**Obrázek 2** Současný model molekulární architektury *T. pallidum*. Na povrchu vnější membrány se nachází protein TP0326 (Tp92) a další vzácné proteiny vnější membrány. Pod vnější membránou se nachází lipoprotein TP0453 vytvářející póry, převzato a upraveno dle Cox *et al.* (2010)

### 3.5 Faktory virulence

*T. pallidum* je vysoce invazivní organismus s omezenými toxigenními schopnostmi (Norris *et al.*, 2001; Šmajš *et al.*, 2012). Invazivita je do určité míry způsobená vývrtkovitým tvarem treponemat, který umožňuje proniknout nízkou viskozitou lidské tkáně (Šmajš *et al.*, 2012). U bakterie *T. pallidum* je známo 67 možných faktorů virulence (Weinstock *et al.*, 1998; Šmajš *et al.*, 2012).

Genom *T. pallidum* nekóduje některé faktory virulence nalezené v patogenních bakteriích. *T. pallidum* neexprimuje lipopolysacharid a endotoxin, vyskytující se běžně u gramnegativních bakterií, který je zodpovědný za mnoho škodlivých účinků. *T. pallidum* nemá žádné skutečné

cytolytické enzymy nebo cytotoxiny zakódované v genomu (LaFond a Lukehart, 2006). Proto většina symptomů je způsobena aktivací zánětlivých a imunitních odpovědí hostitele (Ho a Lukehart, 2011). Nicméně organismus si vyrábí jiné lipoproteiny, které mohou způsobit zánětlivou reakci (LaFond a Lukehart, 2006). Mnoho badatelů věří, že právě zánětlivá reakce je zodpovědná za poškození tkáně během infekcí *T. pallidum*.

Weinstock *et al.* (1998) ve svém díle uvedl možné faktory virulence *T. pallidum* - Tpr proteiny, hemolyziny, regulátory, polysacharidy, povrchové proteiny a také proteiny s neznámou funkcí (Weinstock *et al.*, 1998).

### 3.5.1 Tpr proteiny

*T. pallidum* obsahuje velkou rodinu genů, které kódují předpokládané membránové proteiny, které mohou sloužit jako poriny a adheziny (Fraser *et al.*, 1998). Genová rodina *tpr* zahrnuje 12 členů (*tprA-L*) a je rozdělena do 3 podskupin: podčeleď I (*tprC, D, I a F*), podčeleď II (*tprE, G a J*), a podčeleď III (*tprA, B, H, K a L*) (Gray *et al.*, 2006; Centurion-Lara *et al.*, 2013). Některé studie ukazují, že tyto Tpr antigeny jsou exprimovány během infekce, jsou schopné vyvolat tvorbu protilátek a buněčnou imunitní odpověď v infikovaném hostiteli (Centurion-Lara *et al.*, 2013). Identifikace *tpr* rodiny, které jsou předpokládané jako vnější membránové proteiny, tak může poskytnout nové cíle pro vývoj vakcín.

Předpokládá se, že proteiny TprC/D kmene Nichols mají údajně porinovou aktivitu. Během infekce syfilis jsou terčem silné protilátkové a buněčné imunitní odpovědi. Imunizace s rekombinantním TprC/D indukuje částečnou ochranu proti infekci. Během přirozené lidské nákazy a experimentální infekce králíků, jsou protilátky tvořeny proti variantě TprC/D a TprD2. Při pokusech v králičím modelu s rekombinantním peptidem TprF/I došlo také k částečné ochraně proti homologním kmenům a tvorbě protilátek po imunizaci. Nicméně sekvenční rozmanitost TprC/D, která byla identifikována mezi jednotlivými poddruhy, by mohla přispět ke zkřížené ochraně, která byla pozorována u jiných kmenů a poddruhů *T. pallidum* (Centurion-Lara *et al.*, 2013).

Gen *tprK* je vysoce variabilní v rámci poddruhů a druhů (Šmajš *et al.*, 2012). Identifikace poskytla TprK protein jako první kandidátský antigen *T. pallidum*, který by mohl fungovat v imunitním úniku. Protein TprK se skládá ze sedmi variabilních oblastí (V1-V7). Tyto V oblasti jsou terčem hostitelské humorální imunitní odpovědi při experimentální infekci

(Giacani *et al.*, 2010). Výsledné změny ve variabilních oblastech TprK proteinu umožňují organismu vyhnout se imunitní odpovědi hostitele (Cullen *et al.*, 2004; Giacani *et al.*, 2010).

### 3.5.2 Hemolyziny

U *T. pallidum* nebyla prokázána produkce lipopolysacharidů ani exotoxinů, i když cytotoxická aktivita byla namířena proti neuroblastům a jiným typům buněk při extrémně vysoké koncentraci bakterie. Analýza genomu odhalila pět genů kódujících proteiny podobné bakteriálním hemolysinům (Fraser *et al.*, 1998). Tyto geny jsou označeny *tlyC* (TP0649), *hlyIII* (TP1037), *hlyA* (TP0026), *hlyB* (TP0027), a *hlyC* (TP0936) (Weinstock *et al.*, 1998; Norris *et al.*, 2001). Dosud nebyla experimentálně prokázána hemolytická nebo cytolytická aktivita těchto genů (Norris *et al.*, 2001).

### 3.5.3 Regulátory

Zatím nejsou prakticky žádné předchozí studie o regulaci *T. pallidum* genové exprese. Proto je pravděpodobné, že *T. pallidum* má relativně málo z těchto regulačních systémů. Ty, které se nacházejí, se zdají být zapojeny do regulace metabolické funkce, jako je cyklický AMP vazebného proteinu nebo troR represor (Weinstock *et al.*, 1998).

## 4 ONEMOCNĚNÍ VYVOLANÁ *T. PALLIDUM*

### 4.1 Výskyt a způsob přenosu

#### 4.1.1 Způsob přenosu

K přenosu syfilis dochází ve většině případů pohlavním stykem s infikovaným jedincem. Některé studie ukázaly, že 16 až 30 % jedinců, kteří měli sexuální styk s infikovanou osobou, se během 30 dnů nakazili (LaFond a Lukehart, 2006). Syfilis se vyskytuje především u osob ve věku 15 až 40 let.

Syfilis také může být přenesena přes placentu z matky na plod během těhotenství (Enders *et al.*, 2015). Vrozená syfilis vyžaduje zvláštní pozornost v rozvojových zemích, kde je nedostatek prenatalního testování a antibiotické léčby (LaFond a Lukehart, 2006). Odhaduje se, že ročně je tak ohroženo 1,5 milionu těhotenství, z nichž přibližně 50 % končí spontánním potratem, narozením mrtvého plodu nebo vrozenou syfilis (Enders *et al.*, 2015).

Vzácněji může být infekce přenesena také nepohlavně, kontaktem s krví či tělními tekutinami, výjimečně kontaktem s kožními projevy infekce (Votava *et al.*, 2010). Aby se zabránilo přenosu *T. pallidum* přes krevní transfúze, je syfilis aktivně vyhledávána u všech dárců krve. Riziko přenosu syfilis transfuzí je proto nyní velmi malé (Enders *et al.*, 2015).

#### 4.1.2 Výskyt

Incidence syfilis je stále velmi vysoká na celém světě. WHO odhaduje, že v roce 2005 a 2008 bylo 10,6 milionů nových případů syfilis. Podle těchto odhadů mezi roky 2005 a 2008 nedošlo k nárůstu počtu případů syfilis, oproti výskytu *Neisseria gonorrhoeae* a *Trichomonas vaginalis*, kdy bylo zaznamenáno významné zvýšení onemocnění vyvolanými těmito organismy (WHO, 2013). Incidence pro roky 2005 a 2008 je znázorněna v **Tabulce 2**.

**Tabulka 2** Globální odhady incidence STI pro roky 2005 a 2008 (v milionech případů), převzato a upraveno dle WHO (2013)

<b>Sexuálně přenosné infekce</b>	<b>2005</b>	<b>2008</b>	<b>Změna v %</b>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	101,5	105,7	4,1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	87,7	106,1	21,0
Syfilis	10,6	10,6	0
<i>Trichomonas vaginalis</i>	148,5	276,4	11,2
<b>Celkový počet</b>	<b>448,3</b>	<b>498,9</b>	<b>11,3</b>

Za posledních 15 let došlo k dramatickému nárůstu syfilis v několika oblastech, a to v Číně, Severní Americe, západní Evropě a Austrálii. Po celém světě je nemoc stále rozšířená, což přispívá k podstatné výrazné nemocnosti a novorozenecké úmrtnosti.

Ve většině zemí syfilis postihuje častěji muže. Mezi výjimky patří Rakousko, Salvador, Jamajka, Omán, Paraguay, Katar a Senegal, kde incidence syfilis je vyšší u žen. Od roku 2007 do roku 2011 se zvýšil výskyt syfilis u mužského pohlaví v Bulharsku, Kanadě, Dánsku, Estonsku, na Maltě, na Slovensku a ve Spojených státech, naopak klesl v Itálii, Lotyšsku, Moldavsku, Ománě, Rumunsku a Spojeném království (WHO, 2013).

V posledních letech roste podíl případů syfilis ve Spojených státech u skupiny mužů zvané MSM. Nárůst je často spojován s rizikovým sexuálním chováním a HIV koinfekcí. V roce 2013 se více než 16 000 z celkového počtu hlášených případů týkalo primární a sekundární syfilis. Primární a sekundární syfilis se v současné době nachází u mladších mužů, ve věku 20 až 29 roků. Od roku 2006 došlo ke změně, kdy nejvíce případů syfilis bylo zaznamenáno u věkové kategorie 35 až 59 roků (Clement *et al.*, 2014).

V ČR podléhá povinnému hlášení vrozená syfilis, časná syfilis, pozdní syfilis, jiná a neurčená syfilis. Až do roku 2010 incidence syfilis výrazně stoupala. Od roku 2011 dochází k mírnému poklesu počtu případů syfilis zachycených ročně v ČR. Za rok 2012 bylo evidováno celkem 1 856 hlášení pohlavně přenosných chorob. Z tohoto počtu se 1 151 případů týkalo onemocnění gonokokovou infekcí a 696 případů onemocnění syfilis. Ze statistických údajů vyplývá, že již druhým rokem celkový počet případů syfilis klesá. Data za poslední dva roky zatím nejsou k dispozici. Z celkového počtu případů za rok 2012 se jednalo z 90 % o první záchyt onemocnění. Od roku 2008 výrazně převažuje záchyt časných forem syfilis, a to 60-70 % hlášených případů. Pacienti s časnou získanou syfilis představují rezervoár infekce v české



populaci. Podíl cizinců ze všech hlášení syfilis v posledních dvou letech tvoří čtvrtinu případů. U žen v průběhu gravidity bylo zjištěno 60 případů, vrozená syfilis dítěte byla zjištěna pouze ve dvou případech (ÚZIS, 2013).

Rozdíl ve výskytu onemocnění syfilis z hlediska pohlaví není tak výrazný jak je tomu u kapavky. Zastoupení mužů stoupá každým rokem díky vzestupu infekce u MSM (Kuklová, 2012). Na ženy připadalo 237 případů syfilis oproti 459 případům u mužů, tedy o polovinu méně. U žen byl zaznamenán výraznější pokles incidence než u mužů, a to hlavně ve věkových skupinách s dlouhodobě nejvyšším výskytem (20–34 let). Nejvyšší incidence u žen byla ve věkové skupině 25–29 let. U mužů byl výrazně zvýšený výskyt syfilis oproti ženám v rozsahu věkových skupin 25 až 50 let. Naopak, pokles u mužů byl nejvýraznější ve věkové skupině 20–24 let (ÚZIS, 2013).

Největší výskyt nakažených byl evidován v Hlavním městě Praze, kde je incidence stále dlouhodobě nejvyšší. Vyším počtem onemocnění se vyznačoval i Jihomoravský kraj, dále Středočeský kraj a Ústecký kraj. V Jihomoravském kraji byl také druhý nejvyšší výskyt kapavky. Cizinci se na celkovém počtu případů syfilis nejvíce podíleli ve Středočeském kraji, jednu třetinu případů zaujímali v Plzeňském, Libereckém a Jihomoravském kraji. Přesto více než polovina cizinců s onemocněním syfilis žila v Hlavním městě Praze (ÚZIS, 2013).

Výskyt onemocnění syfilis u injekčních uživatelů drog (IUD) v roce 2012 poklesl. Od roku 2006, kdy bylo za sledované období nahlášeno nejméně případů syfilis u IUD, se počet nakažených syfilis každoročně zvyšoval. V roce 2010 bylo nahlášeno 113 případů syfilis u IUD, přesto do roku 2012 klesl počet o necelou polovinu, na 59 případů. Výskyt syfilis u uživatelů alkoholu byl v celém sledovaném období nízký, pohyboval se maximálně do 9 případů ročně (Nechanská, 2013).

Syfilis je jednou z nejvýznamnějších sexuálně přenosných chorob u HIV pozitivních osob, ale vyskytují se i další sexuálně přenosné nemoci. V roce 2012 bylo u HIV pozitivních osob diagnostikováno 66 nových případů syfilis. Z těchto 66 případů bylo 20 zjištěno souběžně s diagnózou HIV, u 3 případů byla časná syfilis zjištěna v období několik měsíců po diagnóze. Zbývající počet se týkal pacientů, kteří byli diagnostikováni jako HIV pozitivní před rokem 2012 (SZÚ, 2013).

## 4.2 Patogeneze

Syfilis probíhá v několika fázích, neléčené onemocnění může mít vleklý, doslova letitý průběh. Zahrnuje i stav latence, který může být provázen i možnostmi reaktivace (Woznicová, 2007).

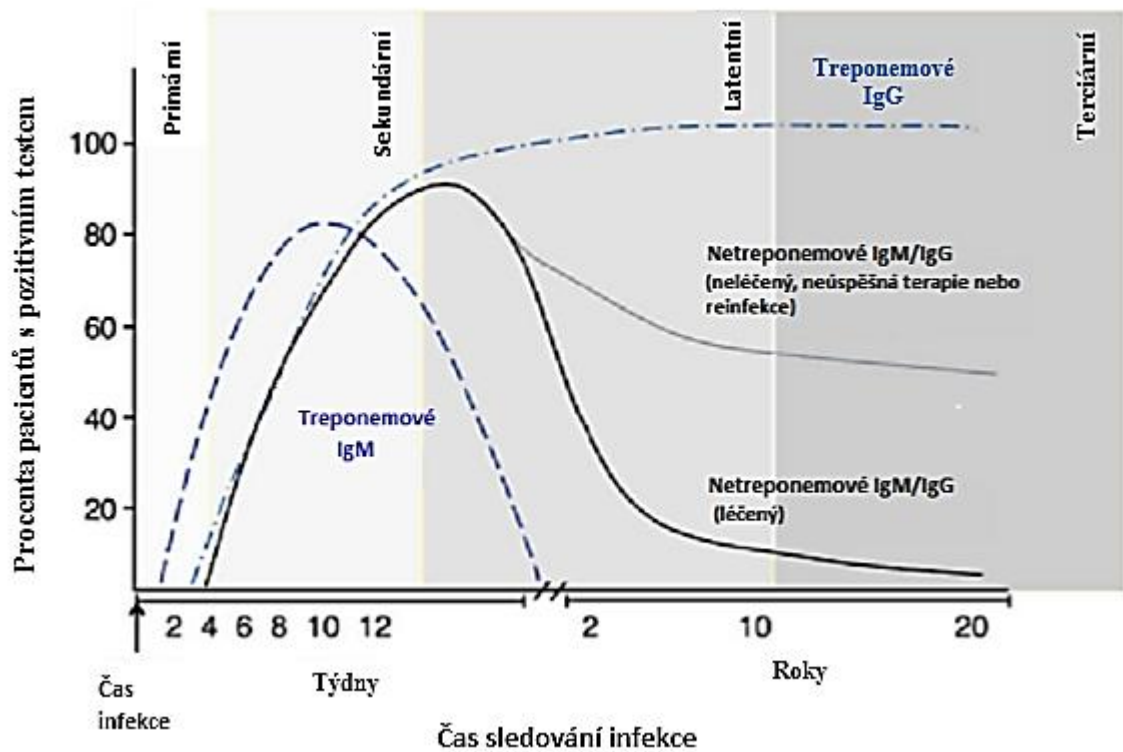
Jediným přirozeným hostitelem *T. pallidum* je člověk, pro něhož je značně patogenní (Zeltser a Kurban, 2004). *T. pallidum* je schopna infikovat jakýkoliv typ lidské tkáně (Šmajš *et al.*, 2012). Absolutní minimální počet treponem nutných k zahájení patogeneze není znám. Nicméně bylo zjištěno, že se *T. pallidum* replikuje velmi pomalu, s časovým dělením přibližně 30-33 hodin, čímž se částečně vysvětluje prodloužená povaha nemoci a poměrně dlouhá doba inkubace (Zeltser a Kurban, 2004). Inkubační doba je přímo úměrná velikosti inokula a kolísá mezi 10 až 90 dny. Do organismu proniká skrz sliznici nebo přes drobné oděrky na kůži. Rychle se dostává do lymfatických cest a krevního řečiště a odtud se šíří do různých orgánů včetně CNS (Ficarra a Carlos, 2009).

*T. pallidum* se množí extracelulárně a nepůsobí chemotakticky na polymorfonukleární leukocyty. Morfologické změny jsou způsobeny poškozením endotelu kapilár a poruchou jejich funkce. Za projevy nemoci nejsou odpovědné samotné bakterie, ale imunopatologické procesy, které jsou způsobeny komplexy antigenů s protilátkami a jednak se uplatňuje buněčná přecitlivělost. Tyto procesy vznikají jako reakce na přítomnost treponemat v organismu a vedou k rozsáhlým destrukcím v době, kdy jsou treponemata téměř eliminovány z organismu (Bednář, 1996).

*T. pallidum*, nazývaná „utajený patogen“, obsahuje velmi málo bílkovin a minimalizuje povrchově lokalizované antigenní cíle uznané hostitelskými protilátkami nebo imunitními buňkami. Humorální odpověď je primárně zprostředkována některými membránovými lipoproteiny, např. TpN47, TpN17 a TpN15. TpN47 lipoprotein je vysoce imunogenní a aktivuje endotelové buňky (Seña *et al.*, 2010).

Ve druhém týdnu infekce se objevují protilátky třídy IgM. Během dalších dvou týdnů dochází k tvorbě protilátek třídy IgG. U sekundární syfilis je humorální odpověď zejména ve třídách IgG1 a IgG3. Po terapii primární a sekundární syfilis protilátky IgM rychle klesají a během 6-12 měsíců se stávají nezjistitelnými. Několik studií naznačuje, že klesající hladina IgM ukazuje adekvátnost léčby (Seña *et al.*, 2010). Merlin *et al.* (1985) prokázali nepřítomnost protilátek IgM u 84 % pacientů s dříve léčenou syfilis (Merlin *et al.*, 1985; Seña *et al.*, 2010). Naproti tomu, IgG1 a IgG3 antitreponemové protilátky mohou přetrvávat po mnoho let

navzdory terapii. Někteří vyšetřovatelé identifikovali zvýšené IgA protilátek u třetiny syfilitických pacientů. Protilátky IgA byly hodnoceny především pro diagnostiku vrozené syfilis (Seña *et al.*, 2010).

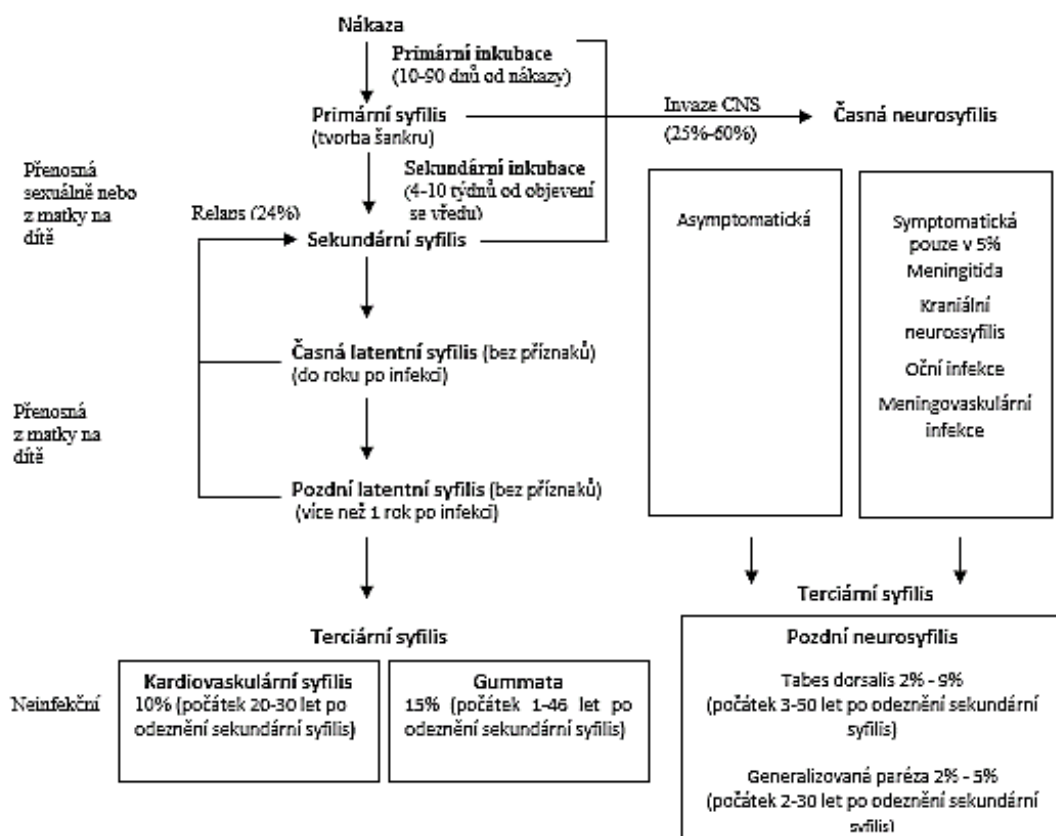


**Obrázek 3** Stádia syfilis a serologie, převzato a upraveno dle Soreng *et al.* (2014)

### 4.3 Klinické projevy

Infekce způsobená *T. pallidum* se označuje jako syfilis. Jedná se o chronické onemocnění, které z hlediska způsobu nákazy můžeme rozdělit na vrozenou a získanou. Získaná syfilis se dále dělí do několika stádií: primární, sekundární, latentní a pozdní syfilis (Ficarra a Carlos, 2009). Infekčnost je uváděna v prvních 2 stádiích (primární a sekundární stádium). Latentní fáze může trvat několik let a pouze u 25-30 % pacientů se vyvinou pozdní chronické projevy (Zeltser a Kurban, 2004).

Průběh kongenitální syfilis se poněkud liší od syfilis získané pohlavním stykem. Je to dáno tím, že treponemata vstupují do fetální cirkulace hematogenně. Proto u vrozené syfilis chybí příznaky primárního stadia, jako je tvrdý vřed (Votava *et al.*, 2003). Průběh neléčené syfilis je znázorněn na **Obrázku 4**.



**Obrázek 4** Průběh neléčené syfilis, převzato a upraveno dle Ho a Lukehart (2011)

### 4.3.1 Primární syfilis

Pravděpodobnost infekce s nakaženou osobou s primární nebo sekundární syfilis je 50-75 %. Kromě toho, přibližně 30 % infikovaných nemusí mít zpočátku klinické nebo sérologické známky infekce. Nákazu zjistí až později (Zeltser a Kurban, 2004).

Treponemata se šíří do organismu již během prvních hodin po počátečním kontaktu s mikroorganismem, ale přednostně se množí v bráně vstupu (Votava *et al.*, 2010). První stádium je charakterizováno tvrdým vředem (ulcus durum), který se obvykle objeví do 3 týdnů v místě vstupu infekce, nejčastěji na genitálu. Tvrdý vřed může být lokalizovaný i na jiném místě lidského těla - na rtech, v dutině ústní, děložním čípku, anorektálně a na prstech. Mluvíme o extragenitální formě (Cohen *et al.*, 2013; Marple *et al.*, 2014). Vřed je nebolestivý, nehnisavý a tvrdý v rozmezí velikosti asi 0,3-3 cm (Powers-Fletcher, 2011). V některých případech může dojít ke vzniku více lézí, zejména při souběžné infekci HIV (Zeltser a Kurban, 2004; Cohen *et al.*, 2013). Nicméně u některých osob se vřed nemusí vyvinout. Během primární fáze

onemocnění se většinou zvětší regionální lymfatické uzliny, ty jsou nebolestivé, ale zarudlé (Sukthankar, 2014).

Primární syfilis je nutno odlišit od jiných infekčních onemocnění (herpes simplex virus, vřed, venerický lymfogranulom, pyogenní vředy) a neinfekčních onemocnění (traumata, nádory, léková erupce) (Cohen *et al.*, 2013). Herpetické vředy, na rozdíl od tvrdého vředu, jsou povrchní, vezikulární a velmi bolestivé (Santis *et al.*, 2012; Cohen *et al.*, 2013).

I bez léčby dojde ke spontánnímu zhojení během 3 až 6 týdnů (Sukthankar, 2014; Marple *et al.*, 2014). Tvrdý vřed se nejčastěji hojí jizvou (Zeltser a Kurban, 2004; Sukthankar, 2014; Marple *et al.*, 2014).



**Obrázek 5** Tvrdý vřed na penise, převzato z Sukthankar (2014)

#### **4.3.2 Sekundární syfilis**

Sekundární stadium se začíná projevovat mezi 2. až 8. týdnem od vymizení tvrdého vředu, ale v některých případech může být primární syfilitický vřed tiše přítomen (Cohen *et al.*, 2013). Během sekundární syfilis dochází k rozsáhlému šíření treponemat organismem (Votava *et al.*, 2010). Jsou napadeny veškeré orgánové systémy (Marple *et al.*, 2014). Nejčastějším projevem sekundární syfilis je kožní vyrážka (Ho a Lukehart, 2011). Většinou se jedná o velké množství zarudlých skvrnek a pupínek na obličeji, dlaních, trupu, končetinách, chodidlech a oblasti

genitálu (Zeltser a Kurban, 2004). Tyto léze jsou nezánetlivé, vyvíjejí se pomalu, ale přesto jsou vysoce nakažlivé (Marple *et al.*, 2014).

Dalším příznakem sekundární syfilis mohou být výrůstky zvané *condylomata lata*. *Condylomata lata* jsou bradavičnaté útvary, které jsou nejčastěji lokalizovány v anální a genitální oblasti. Méně často se mohou objevit v podpaží, obličeji a koutcích úst. Pacienti mohou také mít bolesti v krku při zánětu hltanu, hrtanu nebo mandlí. Asi u 5-6 % pacientů se může vyskytnout vypadávání vlasů, vousů a obočí (Ficarra a Carlos, 2009). Sekundární fáze může být doprovázena nespecifickými příznaky jako je horečka, bolest hlavy, bolest v krku, malátnost, úbytek hmotnosti, ale také širokou škálou systémových projevů jako meningitida, hepatitida, onemocnění ledvin, gastritida, generalizovaná lymfadenopatie a hepatosplenomegalie (Cohen *et al.*, 2013; Marple *et al.*, 2014).

Neurologické komplikace syfilis bývají spojeny s terciárním onemocněním. Některé studie ale prokázaly, že k pronikání *T. pallidum* do CNS dochází během časných stadií onemocnění, a to zejména u HIV infikovaných jedinců (LaFond a Lukehart, 2006; Ho a Lukehart, 2011). Následkem zapojení CNS se může vyvinout meningitida, hluchota a poškození zrakového nervu (Ficarra a Carlos, 2009; Ho a Lukehart, 2011).

Projevy sekundární syfilis se opět spontánně zhojí obvykle během 2-6 týdnů (Votava *et al.*, 2010). Protilátková odpověď je v této fázi infekce již velmi zřetelná a všechny sérologické reakce užívané v diagnostice syfilis jsou obvykle silně pozitivní (Strnadel, 2010; Votava *et al.*, 2010). Výjimkou mohou být pacienti s poruchou imunity (HIV pozitivní, autoimunitní onemocnění), kde může docházet k různým posunům v imunitní odpovědi (Strnadel, 2010).

Sekundární syfilis je klinicky nejméně obtížně diagnostikovat, i když v některých případech může být zaměněna s celou řadou onemocnění kůže (Ficarra a Carlos, 2009). *Condylomata lata* sekundární syfilis by měla být odlišena od *condylomata accuminata*, která způsobuje lidský papilomavirus (Cohen *et al.*, 2013).

### 4.3.3 Latentní syfilis

Po překonání sekundárního stádia nastává časná latentní syfilis. Jedná se o asymptomatické období během prvního roku, po prvotní infekci syfilis (Cohen *et al.*, 2013). Asi u 25 % neléčených pacientů se mohou objevit relapsy příznaků sekundárního stádia (LaFond a Lukehart, 2006).

Pozdní latentní syfilis je označována infekce starší než jeden rok. V této fázi je nepravděpodobný přenos pohlavním stykem, ovšem infekce může být přenesena na plod (LaFond a Lukehart, 2006). Asi 60 % pacientů může zůstat bez příznaků po zbytek jejich života (Sukthankar, 2014). Nemoc lze prokázat jen pomocí specifických protilátek (LaFond a Lukehart, 2006).

#### 4.3.4 Terciární syfilis

Pozdní syfilis se může projevit ve 3 různých formách: benigní (gummatózní) syfilis, kardiovaskulární syfilis nebo neurosyfilis. Vzhledem k dostupnosti účinné léčby antibiotiky nastává terciární stádium jen ve výjimečných případech, a to po 2 až 40 letech od nákazy (Sukthankar, 2014).

Benigní syfilis je charakterizována jednou nebo více gummaty, což jsou útvary, připomínající tuberkulózní uzlíky (Sukthankar, 2014). Gummata jsou tvrdé, nebolestivé, tmavě rudé výrůstky různých velikostí a tvarů, které jsou nejasně ohraničené (Zeltser a Kurban, 2004; Ficarra a Carlos, 2009). Nacházejí se v širokém množství orgánů, především na kůži, kostech, orgánech, svalech nebo v oku (LaFond a Lukehart, 2006; Marple *et al.*, 2014). Na kůži se gummata zobrazí jako uzliny nebo vředy (Sukthankar, 2014). Gummata se mohou rozvinout již 2 roky po počáteční infekci, i když se obvykle objeví mnohem později (LaFond a Lukehart, 2006).

Kardiovaskulární syfilis je dnes velmi vzácná. Je charakterizována zánětem aortální stěny a postižena je nejvíce proximální aorta (Sukthankar, 2014). Stěna je oslabená, tvoří se aterosklerotické pláty a zánět se může rozšířit až k ústí koronárních tepen. Myokard může mít omezené množství kyslíku, což může vést k angině pectoris (Cohen *et al.*, 2013). Asi 40 % z těchto pacientů může mít neurologické zapojení (Sukthankar, 2014).

Neurosyfilis se může projevovat různě. Časná neurosyfilis může být asymptomatická nebo pacienti mohou mít syfilitickou meningitidu či menigovaskulitidu (Costiniuk a MacPherson, 2013). Asymptomatické postižení se projevuje jen změnou mozkomíšního moku bez klinických změn (Poláčková, 2008). U pozdní neurosyfilis jsou nejčastější formy *tabes dorsalis* a progresivní paralýza. Progresivní paralýza je nejzávažnějším stupněm syfilis vyznačující se neurologickými a psychickými příznaky způsobených přítomností virulentních treponemat. Klinicky se jedná o meningoencefalitidu. Obvykle se projeví po uplynutí inkubační doby, která je přibližně 15-20 let. *Tabes dorsalis* postihuje zadní kořeny a provazce míšní a někdy také

optický nerv. Projevuje se šubavou a nejistou chůzí, nekoordinovanými pohyby, vymizením reflexů dolních končetin. Přidává se inkontinence, impotence, zažívací potíže a zvracení. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí přibližně 20-25 let (Cohen *et al.*, 2013).



**Obrázek 6** Gummata na noze, převzato z Zeltser a Kurban (2004)

#### 4.3.5 Vrozená syfilis

Bakterie *T. pallidum* je schopná projít placentou a infikovat plod. K nákaze může dojít během těhotenství i při porodu. Riziko infekce plodu se zvyšuje s délkou těhotenství. Projevy vrozené syfilis jsou ovlivněny stářím plodu, fází mateřské syfilis, léčby matky a imunologickou odpovědí plodu. Pokud je žena nakažena 4 roky před těhotenstvím, má 70 % šanci, že dojde k infekci plodu. Ve 30-40 % případů dochází ke spontánnímu potratu. Naopak narozené děti mohou mít zjevné známky infekce nebo infekce může být zcela bezpříznaková (zhruba dvě třetiny případů) (Santis *et al.*, 2012). Vrozenou syfilis můžeme rozdělit na brzkou kongenitální syfilis a pozdní kongenitální syfilis (Rodríguez-Cerdeira a Silami-Lopes, 2012; Santis *et al.*, 2012).

U brzké kongenitální syfilis se příznaky většinou projevují v prvních dvou letech života. Projevy brzké kongenitální syfilis jsou vysoce infekční a podobné sekundární syfilis (LaFond a Lukehart, 2006). Zahrnují hepatosplenomegalii, lymfadenopatii, selhání ledvin, myxedém,



kožní léze, periostitis, anémii, trombocytopenii a fetální hydrops (Rodríguez-Cerdeira a Silami-Lopes, 2012; Santis *et al.*, 2012). Mezi časně příznaky zapojení nervové soustavy patří meningitida a hydrocefalus, které mohou vést k mírné až závažné mentální retardaci nebo k psychomotorickým poruchám. Destrukce kostní tkáně může způsobit bolest a zlomeniny (Rodríguez-Cerdeira a Silami-Lopes, 2012).

Prvním příznakem až u 50 % novorozenců s kongenitální syfilis je mukózní hnisavý výtok z nosu. Invaze *T. pallidum* do nosní sliznice způsobuje trvalou rýmu s bělavým výtokem, který může být i s příměsí krve. Tento proces později může přejít na tkáň nosu, s následnou destrukcí nosní chrupavky (LaFond a Lukehart, 2006). Kojenci s časnou kongenitální syfilis mohou mít přítomny i kožní léze. Léze jsou serózní, hnisavé nebo hemoragické (Rodríguez-Cerdeira a Silami-Lopes, 2012). Nejčastěji se vyskytují na ploskách a dlaních (Rodríguez-Cerdeira a Silami-Lopes, 2012; Santis *et al.*, 2012). Přítomny mohou být i *condylomata lata* (Santis *et al.*, 2012). Vředy a strupy se rozvíjejí později. Léze obsahují vysokou koncentraci *T. pallidum*, jsou tedy vysoce nakažlivé (Rodríguez-Cerdeira a Silami-Lopes, 2012).

Po více než dvou letech trvání vrozené infekce mluvíme o pozdní kongenitální syfilis, která je ve skutečnosti velmi vzácná a vyskytuje se asi u 40 % neléčených dětí. Mohou se objevit malformace infikovaných rostoucích tkání způsobené chronickým zánětem (Santis *et al.*, 2012). Mezi charakteristická stigmata patří sedlovitý nos a soudkovité řezáky, perforace horního patra, intersticiální keratitis, hluchota a nebolestivé otoky kolen a loktů (Cluttonovy klouby) (LaFond a Lukehart, 2006; Sukthankar, 2014). Jako typický syndrom, tzv. Hutchinsonova triáda, se označuje spojení keratitidy s vestibulární hluchotou a soudkovitými řezáky. K poškození kardiovaskulárního systému u vrozené syfilis nedochází (Rodríguez-Cerdeira a Silami-Lopes, 2012).

#### **4.3.6 Koinfekce HIV a syfilis**

Současným trendem v rozvinutých evropských zemích, především v USA a v Číně, je růst počtu případů syfilis mezi skupinou MSM. U těchto mužů je častá koinfekce HIV a syfilis (Woznicová *et al.*, 2009). Syfilis se u většiny HIV pozitivních projevuje jako u HIV negativních, přesto kombinace může změnit průběh obou nálezů. HIV infekce může urychlit průběh syfilis, a naopak syfilis může způsobit progresi onemocnění HIV.

V primární syfilis až 70 % HIV nakažených pacientů může mít přítomno více lézí, které jsou větší a hlubší (Zetola a Klausner, 2007). Tyto primární léze jsou u MSM často lokalizovány

mimo penis, v oblastech jako rektum, perianální oblast a dutina ústní (Woznicová *et al.*, 2009). U osob, které jsou HIV pozitivní, má syfilis atypický klinický průběh se závažnými celkovými příznaky a neobvyklými kožními vyrážkami. Tyto osoby jsou vystaveny i zvýšenému riziku vzniku neurosyfilis a postižení očí (Ficarra a Carlos, 2009). Neurosyfilis u HIV pozitivních může probíhat asymptoticky a jednak se u pacientů mohou objevit i příznaky neurosyfilis - bolesti hlavy, ztráta sluchu, meningitida, poruchy chůze, mrtvice, chronická myelopatie a demence apod. (Lynn and Lightman, 2004; Ho a Spudich, 2015). Neurosyfilis v souvislosti s HIV koinfekcí je obtížnější diagnostikovat, protože HIV infekce je sama o sobě často spojována se zvýšeným počtem celulárních elementů v CSF (Lynn and Lightman, 2004).

Některé studie ukazují, že syfilis, stejně jako mnoho jiných infekcí, může způsobit přechodné zvýšení virové nálože, tak snížení počtu buněk CD4+. Je možné, že toto přechodné zvýšení virové nálože může přispět ke zvýšenému riziku přenosu HIV u pacientů se současnou infekcí HIV a syfilis. Jak tyto přechodné změny ovlivní celkový průběh onemocnění HIV nebo riziko přenosu syfilis je stále neobjasněné (Zetola a Klausner, 2007).

## 5 TERAPIE A PREVENCE

### 5.1 Terapie

Syfilis lze účinně léčit antibiotiky (Stamm, 2010). Nejčastěji se používá penicilin, který zůstává lékem volby pro všechny fáze syfilis (Cameron a Lukehart, 2014). Dávka a trvání léčby závisí na stádiu a klinických projevech nemoci (Stamm, 2010).

Už více než 50 let je penicilin úspěšně používán k léčbě jedinců se syfilis a penicilin-rezistentní kmeny dosud nebyly zaznamenány (Ho a Lukehart, 2011). Analýza sekvence genomu *T. pallidum* předpověděla tři domnělé PBP, ale žádné typické  $\beta$ -laktamázy (Stamm, 2010). Nicméně Cha *et al.* (2004) prokázali, že Tp47 lipoprotein se váže s penicilinem a má vysokou  $\beta$ -laktamázu činnost, která je předmětem silné inhibice produktu (Cha *et al.*, 2004; Stamm, 2010). Vývoj rezistence na penicilin bude ale pravděpodobně vyžadovat vícestupňový proces mutací, nelze ovšem vyloučit, že se penicilin-rezistentní kmeny v budoucnu neobjeví (Stamm, 2010).

Penicilinová terapie probíhá parenterálním podáním benzathin penicilinu G (BPG) nebo podáním vodného krystalického penicilinu G intravenózně či prokain penicilinu s probenicidem intramuskulárně, a to především u pacientů s neurosyfilis (Cameron a Lukehart, 2014). BPG neprochází hematoencefalickou bariérou. To má význam zejména pro HIV infikované osoby se syfilis (Ho a Lukehart, 2011). U těhotných žen je účinným antibiotikem BPG. V případě alergie u těhotných by měla být provedena desenzibilizace (Workowski a Berman, 2006). Makrolidová antibiotika se v ČR využívají pro léčbu syfilis zejména u gravidních žen, kde jsou tetracyklinová antibiotika kontraindikována. Desenzibilizace při alergii na penicilin (podle doporučení CDC v Atlantě, USA) není v ČR prováděna (Grillová *et al.*, 2015). U vrozené syfilis je doporučen krystalický penicilin G, prokain penicilin G a v některých případech BPG (Workowski a Berman, 2006).

U pacientů alergických na penicilin se musí použít jiná antibiotika. Alternativou jsou tetracyklinová antibiotika (doxycyklin, tetracyklin) inhibující syntézu proteinů reverzibilní vazbou na 30S ribozomální podjednotku (Stamm, 2010). Další variantou jsou makrolidová antibiotika (erytromycin, azitromycin), která se reverzibilně váží na 50S podjednotku ribosomu, čímž také omezují bakteriální syntézu proteinů (Stamm, 2010; Ho a Lukehart, 2011). Další antibiotika, která jsou též doporučována jsou chloramfenikol a cefalosporiny třetí generace (ceftriaxon) (Ho a Lukehart, 2011).

Bohužel se zvýšeným využitím azithromycinu došlo k nárůstu výskytu rezistence *T. pallidum* k makrolidům (Ho a Lukehart, 2011). Molekulární analýza *T. pallidum* odhalila přítomnost genové mutace v molekule 23S rRNA (LaFond a Lukehart, 2006; Stamm, 2010). Až do nedávné doby byla dokumentována pouze mutace A2058G. Matějková *et al.* (2009) identifikovali novou mutaci (tj. A2059G) v 23S rRNA genu *T. pallidum* v klinických vzorcích pacientů z ČR se sekundární syfilis, kteří nereagovali na léčbu spiramycinem (Matějková *et al.*, 2009; Stamm, 2010; Chen *et al.*, 2013). Mutace A2058G způsobuje rezistenci k azitromycinu, erytromycinu, klaritromycinu a roxitromycinu, nikoliv ke spiramycinu. Oproti tomu mutace A2059G způsobuje rezistenci ke všem běžně využívaným makrolidovým antibiotikům. Vysoký výskyt rezistentních kmenů byl popsán v Austrálii, Číně, Irsku, USA a Velké Británii. Nižší prevalence byla zaznamenána v Kanadě, Jižní Africe a na Tchaj-wanu. Naopak na Madagaskaru nebyly zaznamenány žádné rezistentní kmeny k makrolidům. Z ostatních oblastí nejsou data k dispozici. Zatímco výskyt mutace A2058G je u izolovaných kmenů *T. pallidum* vysoký a neustále roste, prevalence mutace A2059G se zdá být poměrně nízká. Zatímco v letech 2004–2010 v ČR bylo 37 % kmenů *T. pallidum* rezistentních k makrolidům, v letech 2011–2013 67 % kmenů *T. pallidum* rezistentních k makrolidům. Vzhledem k vzrůstajícímu výskytu makrolidové rezistence nelze makrolidová antibiotika používat k léčbě syfilis v ČR (Grillová *et al.*, 2015). Jak již bylo řečeno výše, makrolidová rezistence byla dokumentována i v mnoha jiných zemích během posledních deseti let. Proto v současné době, v těchto zemích, nejsou také doporučeny k léčbě nebo prevenci syfilis (Cameron a Lukehart, 2014; Grillová *et al.*, 2015).

U některých pacientů se během 2-12 hodin od podání léčby může objevit Jarisch-Herxheimerova reakce (Santis *et al.*, 2012). Dochází k masivnímu uvolňování endotoxinů z *T. pallidum* do organismu projevující se horečkou, bolestí hlavy, svalů a malátností (Zeltser a Kurban, 2004; Santis *et al.*, 2012). Nejčastěji se objevuje u pacientů s časnou syfilis (Zeltser a Kurban, 2004). Jarisch-Herxheimerova reakce může zvýšit riziko předčasného porodu v druhé polovině těhotenství (Santis *et al.*, 2012). Při kardiovaskulárních syfilis, neurosyfilis může být reakce mnohem závažnější a život ohrožující. Systémové glukokortikoidy podávány buď 12 hodin před nebo současně s antibiotiky mohou zabránit nebo zmírnit reakci (Zeltser a Kurban, 2004).



**Obrázek 7** Prevalence rezistentních kmenů *T. pallidum* k makrolidům ve světě, převzato z Grillová *et al.* (2015)

## 5.2 Prevence

Syfilis podléhá povinnému hlášení, to znamená, že pokud lékař u pacienta onemocnění objeví, je povinen tuto informaci sdělit místní hygienické stanici, se kterou se účastní na vyhledání pacientových sexuálních kontaktů, které musejí být na tuto nemoc vyšetřeny. Sexuálně aktivním mužům, zejména skupině MSM, se doporučuje, aby se nechali otestovat alespoň jednou ročně (stejně jako kapavka, chlamydie a HIV) (CDC).

Prevencí je v první řadě vyhnout se rizikovým faktorům. K nižšímu riziku přenosu této nemoci přispívá vyhýbání se intimnímu fyzickému kontaktu s nakaženou osobou a používání kondomu při pohlavním styku. CDC doporučuje i vyhýbání se látkám, jako jsou např. alkohol a další drogy, které zvyšují pravděpodobnost rizikového sexuálního chování (CDC).

Infekce syfilis během těhotenství stále představuje celosvětový problém pro veřejné zdraví. Doporučuje se serologické vyšetření všech žen při první prenatalní návštěvě a u těhotných s vysokým rizikem, především ve třetím trimestru (Santis *et al.*, 2012).

### Vývoj vakcíny

Pokračující vysoká míra výskytu syfilis, bez ohledu na dostupnost levné a účinné léčby, představuje nejpřesvědčivější argument pro rozvoj vakcíny syfilis, která by zabránila onemocnění i přenosu (Cameron a Lukehart, 2014). Vzhledem k tomu, že *T. pallidum* je

obligátní lidský patogen, úspěšný očkovací program by mohl účinně eliminovat výskyt syfilis. Pokusy pro výrobu vakcíny byly provedeny v průběhu mnoha let imunizací králíků se zcela usmrcenou nebo oslabenou *T. pallidum*, ale byly neúspěšné. Pouze jedna imunizace po injekci treponemat inaktivovaných gama-zářením prokázala úplnou ochranu proti infekci v králičím modelu. Avšak u lidí nákladné a nepraktické pro testování (Ho a Lukehart, 2011).

Práce na tomto fascinujícím organismu se nadále zaměřují na pochopení jeho schopnosti vyhnout se hostitelské imunitní odpovědi, které může v konečném důsledku vést k rozvoji úspěšné vakcíny (Ho a Lukehart, 2011). Nadějí na vývoj vakcíny je hledání vhodných antigenů pro konstrukci rekombinantní vakcíny (Cameron a Lukehart 2014). Genomová sekvence *T. pallidum* je proto v současné době intenzivně studována z hlediska možných kandidátských zevních membránových proteinů.

Antigeny, které jsou nejpravděpodobnější pro vývoj vakcíny, se nachází na buněčném povrchu *T. pallidum*. Významnými antigeny pro vznik vakcíny jsou Tp92 (TP0326), dále enzym TP0257 (Gpd/GlpQ). Široce studovaná je rodina Tpr proteinů, především TprK, o němž je známo, že je cílem opsonizovaných protilátek a obsahuje variabilní úseky, jejichž role se různí. Další předpokládané *T. pallidum* OMPs, které uvedli ve své práci Cullen a Cameron (2006) a mohou sloužit jako ochranné imunogeny, jsou TP0453 (lipoprotein vytvářející póry), TP0155 a TP0483 (fibronektin vázající proteiny) a TP0751 (laminin vázající protein) (Cullen a Cameron, 2006).

## 6 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Syfilis má rozmanité klinické projevy a mnoho klinických příznaků je shodných s ostatními treponemovými a netreponemovými nemocemi. Syfilis proto může být snadno zaměněna s jinými chorobami. Je nutné, aby klinická diagnóza byla vždy podložena vhodnými laboratorními testy. V některých fázích onemocnění však může být syfilis bez příznaků, a to může být problém v diagnostice. Volba konkrétní diagnostické metody závisí na fázi syfilis. U primární syfilis, sekundární syfilis a časné kongenitální syfilis, jsou k dispozici metody přímého průkazu, tak sérologické vyšetření. U latentní syfilis je metodou volby sérologie, především treponemové testy (Ratnam, 2005). Použití různých diagnostických testů v různých fázích syfilis je shrnuto v **Tabulce 3**.

**Tabulka 3** Aplikace a omezení diagnostických testů v různých fázích syfilis, převzato a upraveno dle Ratnam (2005)

Stadium	Doporučené testy	Interpretace
<b>Primární syfilis</b>	přímé vyšetření netreponemové reakce treponemové reakce	Detekce <i>T. pallidum</i> v lézích podává definitivní důkaz o syfilis, ale negativní výsledek syfilis nevylučuje. Testy založené na PCR mají vysokou spolehlivost. V prvních 2-3 týdnech sérologie nemusí být pozitivní, ve většině případů na začátku primární syfilis jsou ale treponemové testy doporučeny. Přítomnost genitálního vředu a pozitivní netreponemové testy nemusí znamenat primární syfilis. V průběhu 2-12 týdnů se opakuje sérologie k vyloučení syfilis.
<b>Sekundární syfilis</b>	přímé vyšetření netreponemové reakce treponemové reakce	<i>T. pallidum</i> může být detekována v kožních a slizničních lézích, PCR může být užitečná u atypických lézích. Sérologické testy mají téměř 100 % citlivost. Čtyřnásobné zvýšení titru poskytuje předpokládanou diagnózu sekundární syfilis.
<b>Latentní syfilis</b>	netreponemové reakce treponemové reakce	Netreponemové testy jsou reaktivní v časné latentní syfilis, ale citlivost klesá v průběhu času.
<b>Terciární syfilis</b>	netreponemové reakce treponemové reakce	Až 30 % nemusí být reaktivní v netreponemových testech, zatímco treponemové testy jsou téměř vždy reaktivní. Léze nejsou vhodné pro přímé mikroskopické vyšetření.

<b>Neurosyfilis</b>	netreponemové reakce treponemové reakce	Diagnóza vyžaduje kombinaci testů. VDRL testy jsou specifické, ale necitlivé, proto negativní výsledek nevyklučuje neurosyfilis. Diagnóza též závisí na reaktivních sérologických testech a abnormalitě CSF. FTA-ABS test může vyloučit neurosyfilis. Testy založené na PCR mají vysokou spolehlivost.
<b>Kongenitální syfilis</b>	přímé vyšetření netreponemové reakce	Diagnóza vyžaduje kombinaci testů. Testuje se žilní krev od matky i dítěte. IgM-specifické testy jsou užitečné pro novorozenecké sérum, ale negativní výsledky nemusí vyloučit vrozenou syfilis. <i>T. pallidum</i> může být detekována přímým vyšetřením různých vzorků od novorozence. Testy založené na PCR mají vysokou spolehlivost. Asymptomatická vrozená syfilis vyžaduje komplexní přístup.

## 6.1 Klinický materiál

Klinickým materiálem pro přímé vyšetření může být stěr z ulcerací a slizničních projevů primární a sekundární syfilis suchým tamponem (Ratnam, 2005; Woznicová 2007). Stěr lze zmrazit a podrobit vyšetření s několikatydenním časovým odstupem, aniž by výrazně klesl obsah DNA *T. pallidum*. Jinou možností je plná krev a sérum, které je ale pro detekci ale méně vhodné. Většina autorů uspěla s izolací DNA spíše z plné krve než ze séra nebo plasmy. Lze využít i punktované materiály jako punktát z lymfatických uzlin, sklivec apod. Pro potvrzení kongenitální syfilis se může odebrat amniová tekutina. *T. pallidum* lze také detekovat v tkáňových řezech a v neposlední řadě v mozkomíšním moku, kdy *T. pallidum* do CNS proniká v různých stadiích syfilis. Mozkomíšní mok je také cenným materiálem pro diagnostiku kongenitální syfilis (Woznicová, 2007).

Materiál vhodný pro sérologické vyšetření je krevní sérum, srážlivá krev a mozkomíšní mok. U kongenitální syfilis by měla být testována žilní krev od matky i dítěte (Ratnam, 2005).

V neposlední řadě je třeba zabránit kontaminaci, která by mohla vést k falešně pozitivnímu výsledku (Ratnam, 2005).

## 6.2 Metody přímé

*T. pallidum* není kultivovatelná na umělých kultivačních médiích, a to představuje hlavní omezení diagnostiky pro přímý průkaz. *T. pallidum* se dá prokázat v kožních nebo slizničních lézích, prokazatelná je také v lézích sekundární syfilis nebo vrozené syfilis (Woznicová, 2007).



Kvůli technickým nárokům metod, poměrně vysoké ceně těchto vyšetření a ne vždy vyhovující citlivosti metod je přímý průkaz treponem zatím vyhrazen spíše specializovaným pracovištím (Woznicová, 2007). V běžné praxi je proto stále rozhodujícím diagnostickým nástrojem pro průkaz syfilis sérologie.

### 6.2.1 Mikroskopie v zástinu

Nejjednodušších a nejspolehlivější přímou metodou pro detekci *T. pallidum* je mikroskopie v zástinu. Nicméně tato technika vyžaduje vyškolený a zkušený personál, má omezenou citlivost a léčba antibiotiky může vést k falešně negativním výsledkům (Ratnam, 2005).

Pro mikroskopii v zástinu se používá většinou exsudát ze spodiny léze. Má být čistý, serózní, bez erytrocytů a úlomků tkáně, protože příměs může komplikovat pozorování treponemat (Ratnam, 2005). Kromě exsudátu z léze se dají v zástinu vyšetřit i tělní tekutiny - aspirát lymfatické uzliny, CSF, plodová voda. Výjimkou jsou ústní léze v důsledku přítomnosti spirochet jiných než *T. pallidum* (Powers-Fletcher, 2011). Identifikace *T. pallidum* spočívá v posouzení morfologie a motility. Během primární fáze serózní tekutina z léze obsahuje četné treponemy, a proto je tento přístup zvláště užitečný u pacientů s imunodeficiencí nebo během časně fáze syfilis (Ratnam, 2005).

Citlivost této vyšetřovací metody se blíží 80 %, ale do značné míry závisí na stavu vývoje lézí. I přes tuto vysokou citlivost, negativní výsledky syfilis nevylučují. Negativní testy mohou vyplývat z různých vysvětlení, jako je příliš rychlé sušení preparátu, příliš mnoho tekutiny na sklíčku a nesprávná tloušťka krycího skla (Powers-Fletcher, 2011). *T. pallidum* může být lehce zaměněna s nepatogenními spirochetami běžně přítomnými na sliznici člověka. V dutině ústní se nachází *T. denticola*. Léze v této oblasti, hlavně v blízkosti dásně, je velmi těžké mikroskopii v zástinu posoudit, a proto se dá *T. denticola* snadno morfologicky zaměnit s *T. pallidum* (Zákoucká, 2007).

Potenciál pro použití této techniky v místě péče o pacienta je významný, a proto by měla být stále tato metoda považována za cenný diagnostický nástroj (Powers-Fletcher, 2011).



**Obrázek 8** *T. pallidum* v temném poli, převzato z Powers-Fletcher (2011)

### 6.2.2 Molekulárně biologická diagnostika

*T. pallidum* se dá detekovat metodou PCR ve všech fázích infekce. Ideální je stádium primární, sekundární a časná kongenitální syfilis.

PCR je metoda rychlého a snadného zmnožení úseku DNA, která se řadí mezi vysoce citlivé a specifické metody (Zákoucká, 2007). Bylo zjištěno, že PCR vykazuje vysokou citlivost se schopností detekce 1-10 organismů na vzorek (Ratnam, 2005; Ficarra a Carlos, 2009). Na rozdíl od ostatních přímých metod dokáže odlišit nepatogenní treponemata, což zkvalitňuje diagnostiku orálních lézí (Woznicová, 2007). Ovšem nedokáže odlišit živá a mrtvá treponemata (Powers-Fletcher, 2011).

Materiálem vhodným pro průkaz přítomnosti *T. pallidum* jsou stěry z lézí, biopsie, plná krev, CSF, tkáň, amniová tekutina a do parafinu zalité tkáně (Zákoucká, 2007). Výhodou je, že klinický materiál není nutné zpracovávat ihned po odběru, je možno ho skladovat při pokojové teplotě a opakovaně zmrazovat a rozmrazovat, aniž by to výrazně ovlivnilo detekční možnosti (Woznicová, 2007).

PCR lze použít k typizaci kmenů na základě specifických sekvencí, ale i ke kvantifikaci mikroorganismů, k rozlišení živých a mrtvých buněk a k průkazu DNA *T. pallidum* v biologických archivních materiálech atd. (Zákoucká, 2007).

Molekulární diagnostické metody jsou zároveň jediným způsobem, jak stanovit v ČR častou rezistenci treponemat na makrolidy, která se podávají jako alternativní léčba při alergii na penicilinová antibiotika (Woznicová *et al.*, 2009).

### 6.2.3 Přímá imunofluorescence

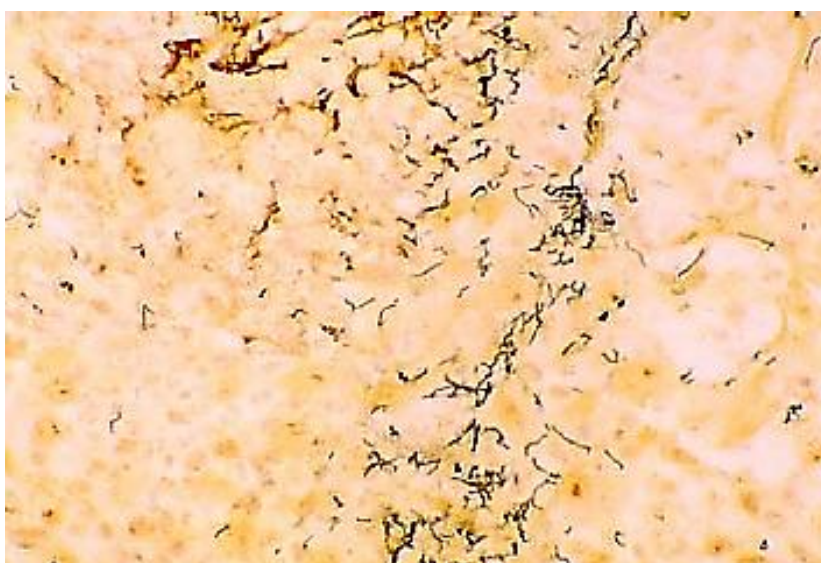
DFA-TP umožňuje vyšetřit různé typy vzorků. Uplatňuje se pro detekci *T. pallidum* v exsudátech z lézí nebo různých tělesných tekutinách (Powers-Fletcher, 2011).

Ke značení primární protilátky se nejčastěji používá fluorescein isothiokyanát. Přímá imunofluorescence slouží k detekci antigenu, nevyžaduje přítomnost pohyblivých treponemat, a proto je daleko snadnější než mikroskopie v zástinu (Ratnam, 2005). Test je spolehlivý pro hodnocení ústních a análních lézí, protože se obarví jen *T. pallidum*. Naopak nerozlišuje *T. pallidum* a jiné patogenní treponemy způsobující frambézii, endemickou syfilis a pintu (Ficarra a Carlos, 2009). Podobně jako u mikroskopie v zástinu ani negativní výsledek DFA-TP nemusí syfilis vyloučit. Nevýhodou metody jsou náklady na techniku a nedostupnost komerčního testu na našem trhu (Zákoucká, 2007).

### 6.2.4 Histologické metody

Původní histologická metodika, impregnace kovy (stříbření), je velmi zdlouhavá a zatížená celou řadou artefaktů (Zákoucká, 2007).

Alternativními metodami pro detekci tkáně je imunofluorescence a imunoperoxidázová metoda. Imunobarvení polyklonálních nebo monoklonálních protilátek proti *T. pallidum* je více citlivý a specifický způsob ve srovnání s metodou barvení stříbrem (Ficarra a Carlos, 2009).



**Obrázek 9** *T. pallidum* ve světlém mikroskopu po obarvení stříbrem, převzato a upraveno dle Ficarra a Carlos (2009)

### 6.2.5 Inokulace zvířecímu hostiteli

*T. pallidum*, stejně jako ostatní virulentní treponemy, nemůže být kultivována *in vitro*. Vhodná metoda k izolaci i k množení je očkování na zvířatech. Test je nesmírně citlivý a specifický, se schopností detekce asi jeden až dva organismy (Powers-Fletcher, 2011).

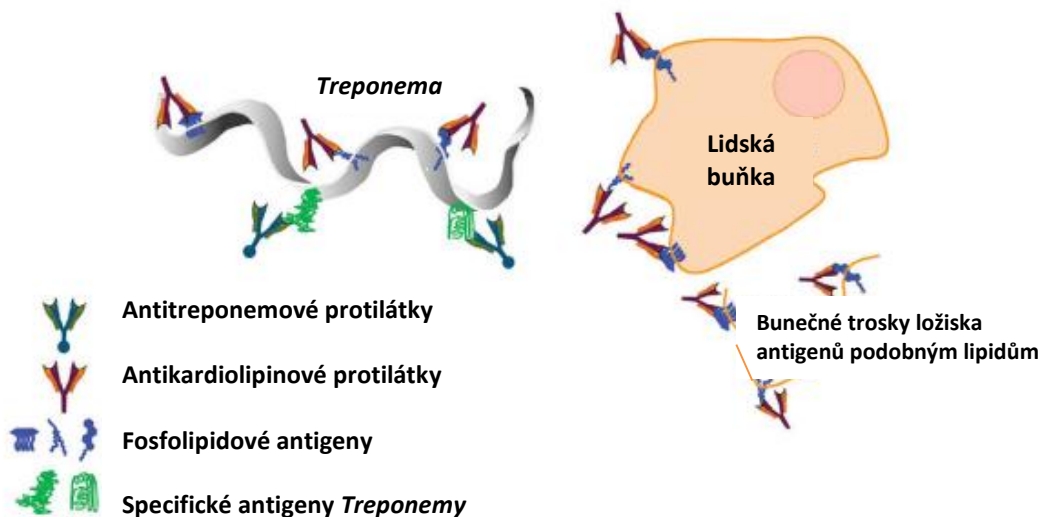
Izolace na králíkovi (RIT) umožňuje vyšetřit širší spektrum materiálů. K inokulaci králíků může být použita krev, CSF, plodová voda, exsudáty z lézí a aspiráty lymfatických uzlin (Powers-Fletcher, 2011). Infekční materiál je nejčastěji injekčně vpraven do králíčích varlat, ale může se podat také intradermálně. Inkubační doba je nepřímo úměrná velikosti inokula. Pokud je ve vyšetřovaném vzorku *T. pallidum*, vyvine se u králíka přibližně za 10 dní orchitida. Mezi inokulací materiálu a onemocněním může uplynout až 90 dnů (Woznicová, 2007).

Metoda se pro diagnostické účely provádí jen zcela výjimečně, je totiž časově náročná. Jedním z omezení metody je poměrně dlouhé čekání na výsledek. Z toho důvodu se RIT nepovažuje za praktický nástroj pro diagnózu syfilis (Powers-Fletcher, 2011).

## 6.3 Metody nepřímé

Nepřímá diagnostika je založena na sérologických testech pro detekci protilátek a je stěžejním nástrojem v diagnostice syfilis.

Reakce užívané v sérologii syfilis můžeme rozdělit na dvě skupiny podle povahy použitého antigenu. Jsou to reakce netreponemové (nespecifické) pro screening a reakce treponemové (specifické) pro potvrzení nákazy. U reakcí specifických se detekuje přítomnost IgM a IgG protilátek proti bílkovinám specifických pro *T. pallidum*. U nespecifických reakcí se zjišťují IgM a IgG protilátky proti fosfolipidovým antigenům (jako jsou kardiolipin a lecitiny) tvořící součást buněčných membrán hostitele i bakterie (Soreng *et al.*, 2014). Citlivost a specifičnost sérologických testů se liší v závislosti na typu testu a fázi onemocnění (Ratnam, 2005). V běžné praxi se používá kombinace více testů, každý cílený na jiný antigen nebo využívající jiný technický přístup, aby poskytovaly co nejučinnější diagnostickou metodu (Powers-Fletcher, 2011).



**Obrázek 10** Detekce protilátek v treponemových a netreponemových testech, převzato a upraveno dle Soreng *et al.* (2014)

### 6.3.1 Netreponemové reakce

Netreponemové testy, zahrnující průkaz nespecifických antikardiolipinových protilátek, slouží k monitorování onemocnění v průběhu a po ukončení léčby, avšak mohou sloužit i k detekci reinfekce. Nespecifické testy jsou rychlé, jednoduché a levné (Ratman, 2005). Jsou však zatíženy 2-10 % falešně pozitivních výsledků a falešně negativních reakcí (Zákoucká, 2007). K průkazu nespecifických protilátek se používá kardiolipinový antigen, což je směs lecitinu, cholesterolu a kardiolipinu (Seňa *et al.*, 2010; Powers-Fletcher, 2011).

Netreponemové testy se stávají pozitivní cca 1-4 týdny po vzniku tvrdého vředu (Ratnam, 2005). Testy však vyžadují potvrzení treponemovými testy, protože nespecifické protilátky mohou být produkovány i u jiných zánětlivých stavů, jelikož kardiolipinový antigen je součástí mnoha lidských tkání. Citlivost se liší v závislosti na typu zkoušky a stadia infekce (Seňa *et al.*, 2010). Hlavním omezením je jejich snížená citlivost v primární syfilis a pozdní latentní syfilis (Ratnam, 2005; Seňa *et al.*, 2010).

Nespecifické testy mají na rozdíl od specifických testů prognostický význam. V průběhu léčby antikardiolipinové protilátky významně klesají. Během jednoho roku v případě primární nebo během dvou let v případě sekundární syfilis můžeme nacházet negativní výsledky.

Dnešní netreponemové reakce jsou modifikacemi původní Wassermanovy reakce, kdy se v rutinní praxi provádějí RPR či RRR, VDRL apod. (Woznicová, 2007). Jejich podstatou je vazba pacientových protilátek na antigen kardiolipin (Votava *et al.*, 2010). Tyto testy lze

provést buď kvalitativně nebo kvantitativně a jsou založeny na makroskopické nebo mikroskopické flokulaci (Soreng *et al.*, 2014).

Přehled vybraných netreponemových reakcí je uveden níže:

### **VDRL**

Veneral Disease Research Laboratory (VDRL) je mikroskopický precipitační test na sklíčku (Ratnam, 2005). Jako jediný netreponemový test může být použit k testování mozkomíšního moku vzhledem k omezené citlivosti a specifičnosti jiných testů (Powers-Fletcher, 2011). Nevýhodou testu je, že suspenze antigenů musí být vždy připravena čerstvá (Ratnam, 2005). Existuje také modifikace VDRL ve formátu ELISA. Výhodou je vysoká citlivost a specifičnost, jakož i možnost automatizovaného screeningu. Test je možné použít jak pro detekci syfilis, tak pro vyhodnocení účinnosti terapie (Powers-Fletcher, 2001).

### **RPR**

Rapid plasma reagin (RPR) je jedním z nejčastěji používaných netreponemových testů a je zjednodušenou verzí testu VDRL. Kardiolipinové antigeny jsou navázány na karbonových částicích, což usnadňuje vizuální odečtení výsledků (Ratnam, 2005). V případě pozitivní reakce dochází k vyvločkování protilátek s kardiolipinovým antigenem. Mezi výhody tohoto testu patří jeho jednoduchost a potenciál pro automatizaci, stabilita antigenu, makroskopické pozorování a mírně vyšší citlivost ve srovnání s VDRL. Nevýhody vyplývají ze skutečnosti, že tato technika není často k dispozici u primární zdravotní péče, a tím se snižuje její užitečnost pro široký screening (Powers-Fletcher, 2011).

### **6.3.2 Treponemové reakce**

Treponemové testy mohou zůstat reaktivní pro mnoho let s léčbou nebo bez léčby. Používají se hlavně jako konfirmační testy pro ověření reaktivity v netreponemových testech. Nicméně mohou být použity i pro screening. Neměly by být používány k vyhodnocení odpovědi na léčbu, recidivy nebo reinfekce u dříve léčených pacientů. Zároveň nerozlišují pohlavní syfilis od endemických syfilis (Ratnam, 2005).

Specifické testy jsou technicky složitější a dražší a stejně jako u netreponemových testů mohou probíhat falešně pozitivní reakce (Ratnam, 2005). V současné době existuje mnoho testů

a některé z nejčastěji používaných jsou uvedeny níže. Od dříve hojně používaného *T. pallidum* imobilizačního testu (tzv. Nelsonův test) se dnes již ustupuje.

Vybrané screeningové treponemové testy jsou uvedeny níže:

## **TPHA**

Mezi vysoce citlivé i specifické metody patří hemaglutinační test TPHA. Antigen *T. pallidum* je vázán na krutí erytrocyty (Votava *et al.*, 2010). Nicméně test je někdy prováděný v modifikaci *T. pallidum* particle agglutination (TPPA) (Strnadel, 2010). Místo krutích erytrocytů jsou použity inertní želatinové barevné částice, čímž se eliminují nespecifické reakce ze vzorků plazmy (Ratnam, 2005). Sérum obsahující protilátky proti *T. pallidum* shlukuje červené krvinky za vzniku aglutinátu (Powers-Fletcher, 2011). Je to velmi jednoduchá reakce, která je často používána jako součást screeningu s kardiolipinovou reakcí (Votava *et al.*, 2010). V případě kombinace těchto testů, VDRL podává informace o aktivitě nemoci, TPHA zaručuje specifitu. TPHA bývá často po léta reaktivní, tudíž nepodává informaci o aktivitě nemoci.

Obdobou zkumavkového testu TPHA je microhaemaglutinační test *T. pallidum* (MHA-TP), prováděný v mikrotitračních destičkách. Nosičem antigenů *T. pallidum* jsou zvířecí krvinky (Zákoucká, 2007). Test MHA-TP vykazuje vysokou specifitu (> 98 %).

## **ELISA a EIA**

Vysoce citlivá a specifická metoda ELISA umožňuje detekci antitreponemových protilátek IgG a IgM (Powers-Fletcher, 2011). Metoda je vhodná pro screening, stejně jako pro potvrzení nespecifických testů (VDRL, RPR, atd.) i specifických testů (TPHA, atd.) (TestLine Clinical Diagnostics). Metodou ELISA se dají stanovovat i celkové protilátky (obou tříd IgM a IgG) proti různým antigenům *T. pallidum*. Stanovení celkových protilátek je poněkud výhodnější, poněvadž na počátku onemocnění mohou být po určitou dobu zachytitelné pouze protilátky IgM (Woznicová, 2007).

Stanovením protilátek IgG a IgM rozlišíme novou a předchozí infekci, diagnostiku vrozených infekcí a antibiotické monitorování účinnosti léčby. Sada EIA *T. pallidum* TOTAL (TestLine Clinical Diagnostics s.r.o, ČR) umožňuje stanovení přítomnosti specifických protilátek v testovaných vzorcích současně (kvalitativní test), čímž se umožní vyšetřit větší

počet vzorků (TestLine Clinical Diagnostics). Výhodou je, že ELISA se dá snadno automatizovat (Zákoucká, 2007).

Principem reakce je vazba specifických IgG nebo IgM protilátek na antigeny *T. pallidum* v mikrotitrační destičce. Přítomnost imunokomplexu se prokáže reakcí konjugátu se substrátem, což vede k tvorbě barevné reakce.

## **CLIA**

Nově bývá používána chemiluminiscenční metoda (CLIA) např. na transfúzních stanicích. Jedná se o specifický test s použitím rekombinantního antigenu (Strnadel, 2010). Výhodu přináší především v automatizaci a diagnostiky z primární zkumavky (Zákoucká, 2007).

## **Rychlé testy**

Specifické testy jsou také komerčně dostupné ve formátech, které mohou být provedeny v místě poskytování péče. K dispozici jsou aglutinačních testy s použitím latexových částic či imunochromatografické testy, na kterých se pozitivní reakce projeví barevnou čarou. Materiálem pro detekci může být plná krev, sérum nebo plazma. Jsou jednoduché na provedení, vyžadují minimální školení a nepotřebují žádné vybavení. Výsledky jsou poskytnuty většinou do 30 minut. Vzhledem k tomu, že tyto rychlé testy neobsahují vnitřní kontrolu kvality, se doporučuje pravidelná externí kontrola kvality (Ratnam, 2005).

Vybrané konfirmační treponemové testy jsou uvedeny níže:

## **FTA-ABS**

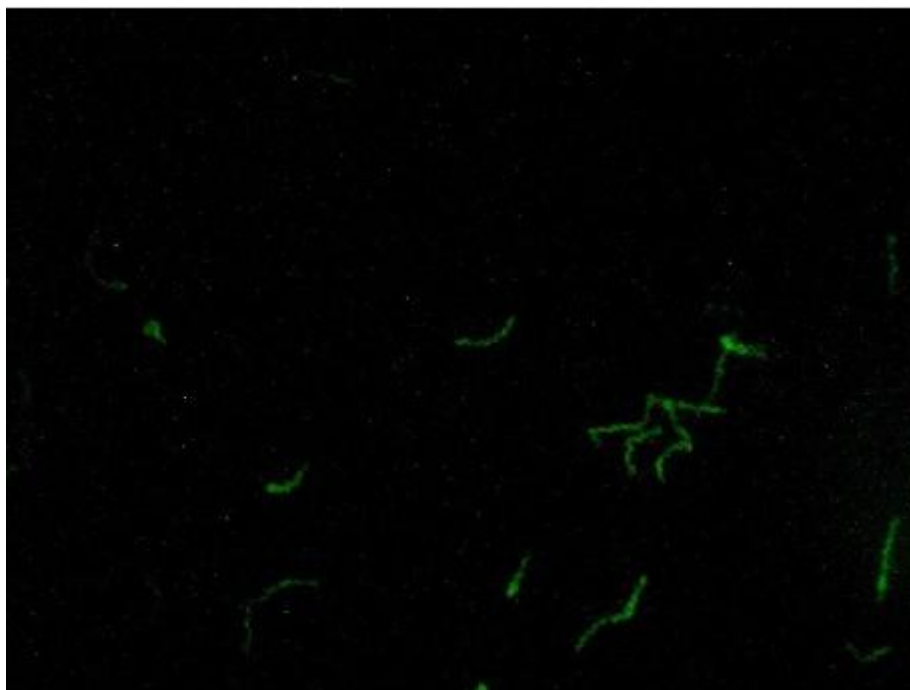
Imunofluorescenční reakce FTA-ABS je považována za nejcitlivější metodu pro potvrzení přítomnosti protilátek v časně fázi infekce (Ratnam, 2005). Ovšem je méně specifická než TPHA, ale může být pozitivní již v době, kdy TPHA je negativní (Votava *et al.*, 2010). Specifické IgG a IgM protilátky se váží na antigeny *T. pallidum*, kterými je potaženo podložní sklíčko. Podstatou je vazba sekundární protilátky označené fluorescenčním barvivem na vzniklý imunokomplex antigen-protilátka. V místě, kde protilátky reagují s *T. pallidum*, se objeví žlutozelená fluorescence (Woznicová, 2007). K odečítání reakce je nutný fluorescenční



mikroskop. Nepřímou imunofluorescencí může být stanovena i frakce IgM pomocí reakce 19S IgM FTA-ABS (Zákoucká, 2007).

FTA-ABS ovšem vyžaduje odstranění nespecifických protilátek, které mohou do reakce vstupovat, ale se syfilis nesouvisí (Ratnam, 2005; Votava *et al.*, 2010). K tomu se používá sorbent připravený z *T. phagedenis* Reiter, čímž se sérum vysytí a odstraní se tak zkříženě reagující protilátky (Zákoucká, 2007). I když jsou tyto testy velmi citlivé a specifické, mohou vést k rozdílným výsledkům v důsledku změn v zařízení, činidlech a interpretace (Ratnam, 2005).

Test FTA-ABS se obvykle neprovádí pro vyšetření CSF. Nicméně technika je velmi citlivá, a proto negativní test může být užitečný při vyloučení neurosyfilis, zejména u pacientů infikovaných HIV.

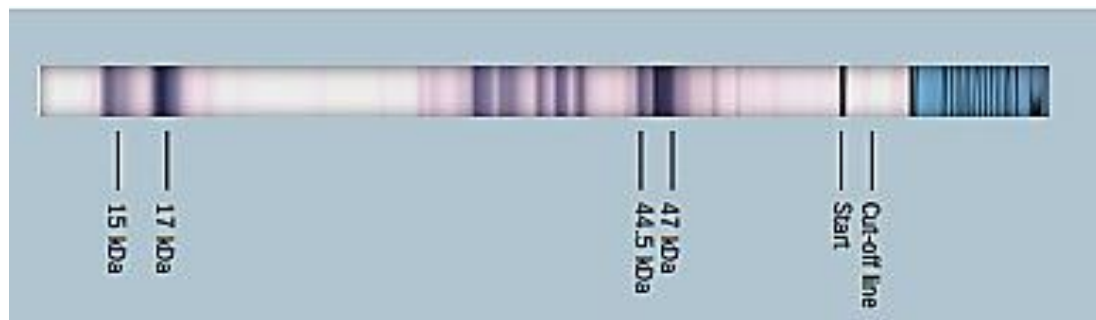


**Obrázek 11** Pozitivní výsledek testu FTA-ABS, převzato z Woznicová (2007)

### Westernblot

Westernblot bývá nejčastěji používán ke confirmaci při zjištění positivity TPHA nebo nespecifických testů (Strnadel, 2010). Metoda poskytuje molekulární charakterizaci protilátkové odpovědi *T. pallidum* prostřednictvím charakteristických proužků (Ratnam, 2005) Metoda umožňuje stanovit specifické protilátky třídy IgG a IgM proti různým antigenům

*T. pallidum*. Nejčastěji používanými antigeny jsou lipoproteiny 15,5, 17 a 47 kDa (Zákoucká, 2007). Specifické IgG nebo IgM se váží na antigeny *T. pallidum* na membráně westernblotu. Tato vazba se prokáže pomocí konjugátu se substrátem, což vede k tvorbě barevných pruhů v místech specifických antigenů (Woznicová, 2007). Westernblot je často používán v některých laboratořích k vyřešení sporných výsledků získaných jinými treponemovými testy (Ratnam, 2005).



**Obrázek 12** Poloha charakteristických pruhů 15,5 kDa, 17 kDa, 44,5 kDa a 47 kDa ve westernblotu (převzato z: <http://www.testlinecd.com/file/1558/treponema.pdf>)

### 6.3.3 Interpretace serologických testů pro průkaz *T. pallidum*

Jak bylo řečeno výše, serologické reakce jsou zatíženy výskytem falešně pozitivních a negativních výsledků.

Specifita netreponemových reakcí je ovlivněna mnoha faktory. Protilátky proti kardiolipinovému antigenu se mohou objevovat nejen při infekci *T. pallidum*, ale též v případě jiných chorobných stavů (Soreng *et al.*, 2014). Antigen kardiolipin používaný u těchto nespecifických testů je totiž součástí mnoha lidských tkání (Salavec *et al.*, 2013). Příčin biologické positivity může být mnoho, např. jiné onemocnění (bakteriální endokarditida, zánět, autoimunitní onemocnění, těhotenství, onemocnění pojivové tkáně, infekce HIV, injekční užívání drog, malignity apod. (Soreng *et al.*, 2014). Falešnou pozitivitu netreponemových testů vyloučí provedení testů za použití specifických treponemových testů, které při negativitě potvrdí falešnou pozitivitu RPR nebo VDRL (Salavec *et al.*, 2013).

Falešně negativní výsledky se mohou vyskytnout z důvodu jevu známého jako prozonový fenomén. Fenomén se může projevit u sér s vysokou koncentrací nespecifických protilátek v době akutní syfilis (Zákoucká 2007; Soreng *et al.*, 2014). Prozonovému fenoménu může být zabráněno sériovým ředěním vzorku (Soreng *et al.*, 2014).

Samozřejmě i u treponemových testů je nutné počítat s výskytem falešně pozitivních výsledků, a to zejména v přítomnosti jiných onemocnění a stavů jako tyroiditida, systémový lupus erythematosus, infekční mononukleóza, genitální herpes, cirhóza, těhotenství, bakteriální infekce, brucelóza, leptospiróza, lymská borelióza, malárie, lepra, injekčního užívání drog, vybočí, pinta a přibývající věk (Soreng *et al.*, 2014). K falešné pozitivitě výsledků FTA-ABS může vést infekce způsobená *Borrelia burgdorferi*, avšak pozitivitu netreponemových testů nezpůsobí (Salavec *et al.*, 2013).

## 7 ZÁVĚR

Syfilis je celkové chronické onemocnění způsobené bakterií *T. pallidum* z čeledi *Spirochaetaceae*. Onemocnění syfilis je stále aktuálním problémem na celém světě. V ČR je ročně zaznamenáno několik set případů syfilis. Incidence syfilis v ČR je v posledních letech stále poměrně vysoká, zejména v rizikové skupině zvané MSM. Onemocnění syfilis trápí tedy v ČR častěji muže než ženy. Od roku 2011 dochází k poklesu počtu případů syfilis v ČR. Oficiální data jsou dostupná do roku 2012.

S ohledem na neexistenci vakcíny, je kontrola výskytu choroby závislá hlavně na časně identifikaci infikovaných osob a adekvátní terapii antibiotiky. Léčba penicilinem je stále účinná, ale problémem se stává rozvoj rezistence k alternativním antibiotikům – makrolidům. Pacienti, kteří užívají tyto antibiotika, by měli být pečlivě sledováni a v oblastech, kde je výskyt vysoký, nejsou vhodným antibiotikem k léčbě syfilis. U pacientů s alergií na penicilin je třeba provést desenzibilizaci, popřípadě použít tetracyklinová antibiotika, na která jsou kmeny *T. pallidum* plně citlivé.

Nemožnost kultivovat *T. pallidum in vitro* je významným problémem při průkazu syfilis. Vedle přímých vyšetřovacích metod záchytu patogena jsou rozhodující zejména postupy nepřímé diagnostiky. I přes rozsáhlou škálu přímých i nepřímých testů, vhodných pro diagnostiku syfilis, zůstává řada situací, ve kterých mohou být výsledky vyšetření problematické a neumožňují rychlé a spolehlivé stanovení diagnózy. Jedná se zejména o vrozenou syfilis a neurosyfilis.

Korunou veškerých snah při výzkumu syfilis je pochopitelně vytvoření vakcíny, která dosud není k dispozici. Problém spočívá v buněčné struktuře *T. pallidum*. Vnější membrána bakterie nemá dostatek povrchových proteinů pro protilátky, aby byly účinné. Protektivní kapacita těchto proteinů se v současnosti stále zkoumá. Nejnadějnější z nich brání v experimentu na králících vzniku lézí po intradermálním podání treponemat nebo léze aspoň omezují. Nejnovější poznatky snad brzy přispějí k vývoji účinné vakcíny a onemocnění syfilis bude eliminováno.

## 8 SEZNAM LITERATURY

BEDNÁŘ, Marek. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

BRINKMAN, M. B., MCGILL, M. A., PETTERSSON, J., A. *et al.* A Novel *Treponema pallidum* Antigen, TP0136, Is an Outer Membrane Protein That Binds Human Fibronectin. *Infection and Immunity*. 2008, **76**(5), s. 1848-1857.

CAMERON, C. E. Identification of a *Treponema pallidum* Laminin-Binding Protein. *Infection and immunity*. 2003, **71**(5), s. 2525–2533.

CAMERON, C. E., BROWN, E. L., Y. KUROIWA J. M. *et al.* *Treponema pallidum* Fibronectin-Binding Proteins. *Journal of Bacteriology*. 2004, **186**(20), s. 7019-7022.

CAMERON, C. E., BROUWER, N. L., TISCH, L. M. *et al.* Defining the Interaction of the *Treponema pallidum* Adhesin Tp0751 with Laminin. *Infection and Immunity*. 2005, **73**(11), s. 7485-7494.

CAMERON, C. E., LUKEHART, S. A. Current status of syphilis vaccine development: Need, challenges, prospects. *Vaccine*. 2014, **32**(14), s. 1602-1609.

CENTURION-LARA, A., GIACANI, L., GODORNES, Ch. *et al.* Fine Analysis of Genetic Diversity of the tpr Gene Family among Treponemal Species, Subspecies and Strains. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2013, **7**(5), s. e2222.

CHA, J. Y., ISHIWATA, A., MOBASHERY, S. A. Novel-Lactamase Activity from a Penicillin-binding Protein of *Treponema pallidum* and Why Syphilis Is Still Treatable with Penicillin. *Journal of Biological Chemistry*. 2004, **279**(15), s. 14917-14921.

CHEN, C.-Y., CHI, K.-H., PILLAY, A. *et al.* Detection of the A2058G and A2059G 23S rRNA Gene Point Mutations Associated with Azithromycin Resistance in *Treponema pallidum* by

- Use of a TaqMan Real-Time Multiplex PCR Assay. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013, **51**(3), s. 908-913.
- CLEMENT, M. E., OKEKE, N. L., HICKS, Ch. B. Treatment of Syphilis. *JAMA*. 2014, **312**(18), s. 1922-1935.
- COHEN, S. E., KLAUSNER, J. D., ENGELMAN, J. *et al.* Syphilis in the Modern Era. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2013, **27**(4), s. 705-722.
- COSTINIUK, C. T., MACPHERSON, P. A. Neurocognitive and psychiatric changes as the initial presentation of neurosyphilis. *Canadian Medical Association Journal*. 2013, **185**(6), s. 499-503.
- CULLEN, P. A., HAAKE, D. A., ADLER, B. Outer membrane proteins of pathogenic spirochetes. *FEMS Microbiology Reviews*. 2004, **28**(3), s. 291-318.
- DICKERSON, M. T., ABNEY, M. B., CAMERON, C. E. *et al.* Fibronectin Binding to the *Treponema pallidum* Adhesin Protein Fragment rTp0483 on Functionalized Self-Assembled Monolayers. *Bioconjugate Chemistry*. 2012, **23**(2), s. 184-195.
- ENDERS, M., HUNJET, A., GLEICH, M. *et al.* Performance Evaluation of the Elecsys Syphilis Assay for the Detection of Total Antibodies to *Treponema pallidum*. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2015, **22**(1), s. 17-26.
- FICARRA, G., CARLOS, R. Syphilis: The Renaissance of an Old Disease with Oral Implications. *Head and Neck Pathology*. 2009, **3**(3), s. 195-206.
- FRASER, C. M., NORRIS, S. J., WEINSTOCK, G. M. *et al.* Complete Genome Sequence of *Treponema pallidum*, the Syphilis Spirochete. *Science*. 1998, **281**(5375), s. 375-388.
- GIACANI, L., MOLINI, B. J., KIM, E. *et al.* Antigenic Variation in *Treponema pallidum*: TprK Sequence Diversity Accumulates in Response to Immune Pressure during Experimental Syphilis. *The Journal of Immunology*. 2010, **184**(7), s. 3822-3829.

GRAY, R., MULLIGAN, C. J., MOLINI, B. J. *et al.* Molecular Evolution of the *tpnC*, D, I, K, G, and J Genes in the Pathogenic Genus *Treponema*. *Molecular Biology and Evolution*. 2006, **23**(11), s. 2220-2233.

GRILLOVÁ, L., MIKALOVÁ, L., ZÁKOUCKÁ, H. *et al.* Rezistence původce syfilis, *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, k makrolidovým antibiotikům v České republice a ve světě. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 2015, **64**(1), s. 4-10.

HARPER, K. N., OCAMPO, P. S., STEINER, B. M. *et al.* On the Origin of the Treponematoses: A Phylogenetic Approach. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008, **2**(1), s. e148.

HARPER, K. N., ZUCKERMAN, M. K., HARPER, M. L. *et al.* The origin and antiquity of syphilis revisited: An Appraisal of Old World pre-Columbian evidence for treponemal infection. *American Journal of Physical Anthropology*. 2011, **146**(S53), s. 99-133.

HO, E. L., LUKEHART, S. A. Syphilis: using modern approaches to understand an old disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2011, **121**(12), s. 4584-4592.

HO, E., SPUDICH, S. S. Neurosyphilis and the impact of HIV infection. *Sex Health*. 2015, **12**, s. 148–54.

HOUSTON, S., HOF, R., FRANCESCUTTI, T. *et al.* Bifunctional Role of the *Treponema pallidum* Extracellular Matrix Binding Adhesin Tp0751. *Infection and Immunity*. 2011, **79**(3), s. 1386-1398.

HOUSTON, S., HO, R., HONEYMAN, L. *et al.* Activation and Proteolytic Activity of the *Treponema pallidum* Metalloprotease, Pallilysin. *PLoS Pathog*. 2012, **8**(7), s. e1002822.

KE, W., MOLINI, B. J., LUKEHART, S. A. *et al.* *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* TP0136 Protein Is Heterogeneous among Isolates and Binds Cellular and Plasma Fibronectin via its NH<sub>2</sub>-Terminal End. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015, **9**(3), s. e0003662.

- KUKLOVÁ I. Syphilis včera a dnes. *Dermatologie pro praxi*. 2012, **6**(3), s. 136-137.
- LAFOND, R. E., LUKEHART, S. A. Biological Basis for Syphilis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006, **19**(1), s. 29-49.
- LIU, J., HOWELL, J. K., BRADLEY, S. D. *et al.* Cellular Architecture of *Treponema pallidum*: Novel Flagellum, Periplasmic Cone, and Cell Envelope as Revealed by Cryo Electron Tomography. *Journal of Molecular Biology*. 2010, **403** (4), s. 546-561.
- LYNN, W. A., LIGHTMAN, S. Syphilis and HIV: a dangerous combination. *Lancet Infect Dis*. 2004, **4**(7), s. 456-66.
- MARPLE, R., LING, C., POLLACK, J. Clinical Case Study of Syphilis: Another Example of the “Great Imitator”. *The Journal for Nurse Practitioners*. 2014, **10**(9), s. 729-736.
- MATĚJKOVÁ, P., FLASAROVÁ, M., ZÁKOUCKÁ, H. *et al.* Macrolide treatment failure in a case of secondary syphilis: a novel A2059G mutation in the 23S rRNA gene of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. *Journal of Medical Microbiology*. 2009, **58**(6), s 832-836.
- MERLIN, S., ANDRE, J., ALACOQUE, B. *et al.* Importance of specific IgM antibodies in 116 patients with various stages of syphilis. *Genitourin Med*. 1985, **61**(2), s. 82-87.
- NECHANSKÁ, B. Vývoj infekčních nemocí u uživatelů alkoholu a jiných drog v letech 2003 – 2012. Aktuální informace č. 27/2013. Praha: ÚZIS ČR, 2013.
- NORRIS, S. J., COX, D. L., WEINSTOCK, G. M. Biology of *Treponema pallidum*: correlation of functional activities with genome sequence data. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 2001, **3**(1), s. 37-62.
- PEELING, R. W., HOOK, E. W. The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker, revisited. *The Journal of Pathology*. 2006, **208**(2), s. 224-232.
- POLÁČKOVÁ, Z. Pohlavní choroby-I.díl. *Dermatológia pre prax*. 2008; **1**, s. 15 – 17.



- POWERS-FLETCHER, M. A review of the biology and the laboratory diagnosis of *Treponema pallidum* infections. *Journal of Continuing Education Topics & Issues*. 2011, **13**(3), s. 80-93.
- RATNAM, S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology*. 2005, **6**(1), s. 45-51.
- RODRÍGUEZ-CERDEIRA, C., SILAMI-LOPES, V. G. Congenital Syphilis in the 21st Century. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*. 2012, **103**(8), s. 679-693.
- SALAVEC, M., BOŠTÍKOVÁ V., VAŇÁSKOVÁ, Z. *et al.* *Treponema pallidum*, subspecies *pallidum* – původce neurosyfilis. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 2013, **62**(3), s. 91–99.
- SANTIS, M., LUCA, C., MAPPA, I. *et al.* Syphilis Infection during Pregnancy: Fetal Risks and Clinical Management. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. 2012, **2012**, s. 143-146.
- SEDLÁČEK, I. Taxonomie prokaryot. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2007, 270 s. ISBN 80-210-4207-9.
- SEŇA, A. C., WHITE, B. L., SPARLING, P. F. Novel *Treponema pallidum* Serologic Tests: A Paradigm Shift in Syphilis Screening for the 21st Century. *Clinical Infectious Diseases*. 2010, **51**(6), s. 700-708.
- SINHA, A., AHMAD, F., HASSAN, Md. Structure Based Functional Annotation of Putative Conserved Proteins from *Treponema pallidum*: Search for a Potential Drug Target. *Letters in Drug Design*. 2015, **12**(1), s. 46-59.
- SORENG, K., LEVY, R., FAKILE, Y. Serologic Testing for Syphilis: Benefits and Challenges of a Reverse Algorithm. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2014, **36**(24), s. 195-202.
- SOUZA, E. M. A hundred years ago, the discovery of *Treponema pallidum*. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2005, **80**(5), s. 547-548.

STAMM, L. V. Global Challenge of Antibiotic-Resistant *Treponema pallidum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010, **54**(2), s. 583-589.

STRNADEL, R. Onemocnění zevního genitálu u mužů. *Dermatologie pro praxi*. 2010, **3**(2), s. 71-74.

SUKTHANKAR A. Syphilis. *Medicine*. 2014, **42**(7), s. 394-398.

ŠMAJS, D., NORRIS, S. J., WEINSTOCK, G. M. Genetic diversity in *Treponema pallidum*: Implications for pathogenesis, evolution and molecular diagnostics of syphilis and yaws. *Infection, Genetics and Evolution*. 2012, **12**(2), s. 191-202.

ŠTAUDOVÁ, B., STROUHAL, M., ZOBANÍKOVÁ, M.. *et al.* Whole Genome Sequence of the *Treponema pallidum* subsp. *endemicum* Strain Bosnia A: The Genome Is Related to Yaws Treponemes but Contains Few Loci Similar to Syphilis Treponemes. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2014, **8**(11), s. e3261.

TAMPA M., SARBU, I., MATEI, C. *et al.* Brief History of Syphilis. *Journal of Medicine and Life*. 2014, **7**(1), s. 4-10.

TOMSON, F. L., CONLEY, P. G., NORGDARD, M. V. *et al.* Assessment of cell-surface exposure and vaccinogenic potentials of *Treponema pallidum* candidate outer membrane proteins. *Microbes and Infection*. 2007, **9**(11), s. 1267-1275.

VOTAVA, M. *et al.* Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2003, 495 s. ISBN 80-902896-6-5.

VOTAVA, M. *et al.* Lékařská Mikrobiologie: Vyšetřovací metody. Vyd. 1. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-80-86850-04-8.

WEINSTOCK, G. M., HARDHAM, J. M., MCLEOD, M. P. *et al.* The genome of *Treponema pallidum*: new light on the agent of syphilis. *FEMS Microbiology*. 1998, **22**(4), s. 323-332.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Baseline Report on Globally Sexually Transmitted Infection Surveillance 2012. (World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2013)

WOZNICOVÁ, V., DASTYCHOVÁ, E., ŠMAJS, D. Syphilis u pacientů označovaných jako „men having sex with men“ – význam přímého průkazu metodou PCR. *Dermatológia pre praxi*. 2009, **3**(1), s. 34-35.

ZDRAVOTNICKÁ STATISTIKA ČR. Pohlavní nemoci 2012. Praha: ÚZIS ČR, 2013. ISBN 978-80-7472-085-7.

ZELTSER, R., KURBAN, A. K. Syphilis. *Clinics in Dermatology*. 2004, **22**(6), s. 461-468.

ZETOLA, N. M., KLAUSNER, J. D. Syphilis and HIV Infection: An Update. *Clin Infect Dis*. 2007, **44**(9), s. 1222-1228.

### **Elektronické zdroje**

CULLEN, P.A., CAMERON, C. E. Progress towards an effective syphilis vaccine: the past, present and future [online]. *Expert Review of Vaccines*. 2006, **5**(1), s. 67-80 [cit. 2015-05-23]. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/888716023?accountid=17239>.

TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTICS. Enzyme immunoassays for the diagnosis of syphilis. *Treponema pallidum* [online] [cit. 2015-06-10].

Dostupné z: <http://www.testlinecd.com/file/1558/treponema.pdf>.

LI, C., MOTALEB, A., SAL, M. *et al.* Spirochete periplasmic flagella and motility [online]. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 2000, **2**(4), s. 345-54 [cit. 2015-06-10].

Dostupné z:

[http://www.researchgate.net/publication/12251601\\_Spirochete\\_periplasmic\\_flagella\\_and\\_motility](http://www.researchgate.net/publication/12251601_Spirochete_periplasmic_flagella_and_motility).

PARIJA, S. Ch. Textbook of Microbiology and Immunology [online]. Indie: *Elsevier Health Sciences*, 2009 [cit. 2015-06-10]. ISBN 978-81-312-2163-1.

Dostupné z:

<https://books.google.cz/books?id=HcgGLfxDJSQC&pg=PA386&dq=treponema+pallidum&hl=cs&sa=X&ved=0CEIQ6AEwBWoVChMIyoTI4diExgIVSuwUCh0TOAB1#v=onepage&q=treponema%20pallidum&f=false>.

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV. Tisková zpráva Národní referenční laboratoře pro HIV/AIDS ke Světovému dni boje proti AIDS 2013 [online]. Trendy vývoje a výskyt HIV/AIDS v ČR v roce 2013 [cit. 2015-06-14].

Dostupné z:

[http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/HIV\\_AIDS/rocní\\_zpravy/2013/Tiskova\\_zprava\\_NRL\\_AIDS\\_29112013.pdf](http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/HIV_AIDS/rocní_zpravy/2013/Tiskova_zprava_NRL_AIDS_29112013.pdf).

Syphilis - CDC Fact Sheet [online]. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 8. 6. 2014 [cit. 2015-06-10].

Dostupné z: <http://www.cdc.gov/std/syphilis/STDFact-Syphilis.html>.

Trends in Sexually Transmitted Diseases in the United States: 2009 National Data for *Gonorrhea*, *Chlamydia* and Syphilis [online]. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 22. 2. 2010 [cit. 2015-06-10].

Dostupné z: <http://www.cdc.gov/std/stats09/tables/trends-table.html>.

WORKOWSKI, K. A, BERMAN, S. M. Sexually transmitted diseases treatment guidelines [online]. *MMWR Recomm Rep*. 2006, **55**(RR-11), s. 1-94 [cit. 2015-06-10].

Dostupné z: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5511a1.html>.

WOZNICOVÁ, V. Laboratorní diagnostika syfilis [online]. 1.vyd. Brno: LF MU, Mikrobiologie online, 2007 [cit. 2015-04-20].

Dostupné z: <http://www.medmicro.info/portal/syphilis/lv13/>.

ZÁKOUCKÁ H. Syfilis - tradiční choroba, současný problém II [online]. Zprávy CEM (SZÚ, Praha). 2007, **16**(10-11), s. 493 – 497 [cit. 2015-06-10].

Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/syfilis-tradicni-choroba-soucasny-problem-ii?highlightWords=syfilis>.

### **Zdroje obrázků a tabulek**

COX, D. L., A. LUTHRA, S., DUNHAM-EMS. *et al.* Surface Immunolabeling and Consensus Computational Framework To Identify Candidate Rare Outer Membrane Proteins of *Treponema pallidum*. *Infection and Immunity*. 2010, **78**(12), s. 5178-5194.

COX, D. Electron micrograph of *Treponema pallidum* on cultures of cotton-tail rabbit epithelium cells (Sf1Ep). *Centers for Disease Control and Prevention* [online] [cit. 2015-04-10].

Dostupné z: <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=1977>.

FICARRA, G., CARLOS, R. Syphilis: The Renaissance of an Old Disease with Oral Implications. *Head and Neck Pathology*. 2009, **3**(3), s. 195-206.

GRILLOVÁ, L., MIKALOVÁ, L., ZÁKOUCKÁ, H. *et al.* Rezistence původce syfilis, *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, k makrolidovým antibiotikům v České republice a ve světě. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 2015, **64**(1), s. 4-10.

HLUSKA, T. *BioLib*. 2006, 17. 3. 2011 [cit. 2015-04-10].

Dostupné z: <http://www.biolib.cz/cz/taxonposition/id284906/>.

HO, E. L., LUKEHART, S. A. Syphilis: using modern approaches to understand an old disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2011, **121**(12), s. 4584-4592.

POWERS-FLETCHER, M. A review of the biology and the laboratory diagnosis of *Treponema pallidum* infections. *Journal of Continuing Education Topics & Issues*. 2011, **13**(3), s. 80-93.

RATNAM, S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology*. 2005, **6**(1), s. 45-51.

SORENG, K., LEVY, R., FAKILE, Y. Serologic Testing for Syphilis: Benefits and Challenges of a Reverse Algorithm. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2014, **36**(24), s. 195-202.

SUKTHANKAR A. Syphilis. *Medicine*. 2014, **42**(7), s. 394-398.

TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTICS. Enzyme immunoassays for the diagnosis of syphilis. *Treponema pallidum*. [online]. [cit. 2015-06-10].

Dostupné z: <http://www.testlinecd.com/file/1558/treponema.pdf>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Baseline Report on Globally Sexually Transmitted Infection Surveillance 2012. (World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2013).

WOZNICOVÁ, V. Laboratorní diagnostika syfilis [online]. 1.vyd. Brno: LF MU, Mikrobiologie online, 2007 [cit. 2015-04-20].

Dostupné z: <http://www.medmicro.info/portal/syphilis/lv13/>.

ZELTSER, R., KURBAN, A. K. Syphilis. *Clinics in Dermatology*. 2004, **22**(6), s. 461-468.