

Diagnostika klasických pohlavních chorob

Zákoucká H., Kuklová I.

Dermatovenerologická klinika 1. LF UK a VFN Praha
přednosta prof. MUDr. Jiří Štork, CSc.

Souhrn

Diagnostika klasických pohlavních chorob

Cílem práce je podat přehled současných možností diagnostiky klasických pohlavních chorob, syfilidy, kapavky, lymphogranuloma venereum, ulcus molle a připomenout aktuální právně závazné zákonné normy a metodické pokyny MZ ČR, které jsou součástí české legislativy, jejíž začátky se datují od roku 1922.

Klíčová slova: STI – pohlavní nemoc – diagnostika – syfilis – kapavka – ulcus molle – lymphogranuloma venereum

Summary

Diagnostics of Classical Venereal Diseases

Paper aims to review contemporary possibilities of diagnostics of classical venereal diseases (syphilis, gonorrhoea, lymphogranuloma venereum, ulcus molle) and reminds current mandatory rules of law and guidelines of the Ministry of Health of the Czech Republic, which are forming part of the Czech legislature from 1922.

Key words: STI – venereal disease – diagnostics – syphilis – gonorrhoea – ulcus molle – lymphogranuloma venereum

ÚVOD

Skupina sexuálně přenosných infekcí (STI) zahrnuje celou řadu klinicky manifestních nebo latentních onemocnění. V naší zeměpisné oblasti jsou z bakteriálních infekcí v centru pozornosti jednak chlamydiové infekce sérotypu D-K, jednak zástupci klasických „pohlavních nemocí“ – syfilis a kapavka. Problematika chlamydiových infekcí jmenovaných sérotypů byla opakovaně detailně publikována, ale klasické pohlavní nemoci nebývají zmiňovány tak často, jak by si nejen vzhledem k riziku současného přenosu HIV zasloužily. Proto uvádíme aktuální možnosti sérologické, mikrobiologické a molekulárně genetické diagnostiky vybraných STI.

Legislativa

V České republice existuje dlouhá tradice úspěšného boje proti infekcím. První zákonná norma v prevenci pohlavních nemocí byla přijata již v roce 1922.

Aktuální právně závazné zákonné normy a metodické pokyny MZ ČR jsou nepřehledné a fragmentované, patří k nim řada zákonů, metodických pokynů a doplňujících vyhlášek, např.:

- **Zákon č. 258/2000 Sb.**, o ochraně veřejného zdraví.
- **Vyhláška MZ ČR č. 195/2005 Sb.**, podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění.
- **Směrnice č. 30/1968 Věstníku MZ**, o opatření proti pohlavním nemocem, zapsaná ve sbírce zákonů.
- **Věstník MZ ČR z prosince 1997, částka 10** standardy vyšetřovacích postupů STD (18).

VENERICKÁ SYFILIS (LUES, PŘÍJICE)

Je to celosvětově rozšířené infekční onemocnění, které nejčastěji postihuje ženy a muže mezi 15–30 lety věku (16). Jejím přirozeným hostitelem je pouze člověk, experimentálně některé druhy vnímavých savců. 90 % případů

Práce byla částečně podpořena z Grantového úkolu IGA MZ 219564 8091-3: Porovnání screeningových a konfirmačních metod v diagnostice syfilidy.

Tab. 1. Treponemata patogenní pro člověka – onemocnění, výskyt, hlavní způsob přenosu

Původce	Onemocnění	Oblast výskytu	Primární způsob přenosu
<i>Treponema pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i>	venerická syfilis	celosvětový	sexuální, vrozená
<i>Treponema pallidum</i> subsp. <i>endemicum</i>	endemická (nevenerická) syfilis	vlhké tropy	z úst do úst, předměty
<i>Treponema pallidum</i> susp. <i>pertenue</i>	frambézie	aridní zóny tropů	kůží - kontaktem
<i>Treponema carateum</i>	pinta	aridní zóny tropické Ameriky	kůží - kontaktem

je přeneseno pohlavním stykem (koitálním, orálním nebo análním), 10 % infekcí nepohlavně (transplacentárně – vrozená onemocnění, náhodný kontakt s lézí – líbání, profesionální expozice, teoreticky je možný i přenos krevní transfúzí – v posledních 30 letech byly v odborné literatuře popsány pouze 3 případy, nebo kontaminovaným předmětem – nasliněná tetovací jehla) (obr. 2, 3, 4, 5).

Etiologie

Čeleď: *Spirochaetaceae*

Rod: *Treponema*

Druh: *Treponema pallidum* subspecies *pallidum* (TPP)

Příbuzná agens (tab. 1): *Treponema pallidum* subsp. *endemicum*, *Treponema pallidum* subsp. *pertenue*, *Treponema carateum* způsobují nevenerické treponematózy, onemocnění nejčastěji dětské populace endemických oblastí (tropy a subtropy). Značná genetická příbuznost (>95 %) mezi těmito bakteriemi se projevuje ve shodné morfologii a protilátkové odpovědi makroorganismu na probíhající onemocnění. Dosud proto není možné odlišit bakterie mikroskopii nativního preparátu, přímou imunofluorescenční mikroskopii, průkazem vytvořených protilátek ani běžně používanými molekulárně-genetickými metodami (tab.1). Z dalších zástupců rodu *Treponema*

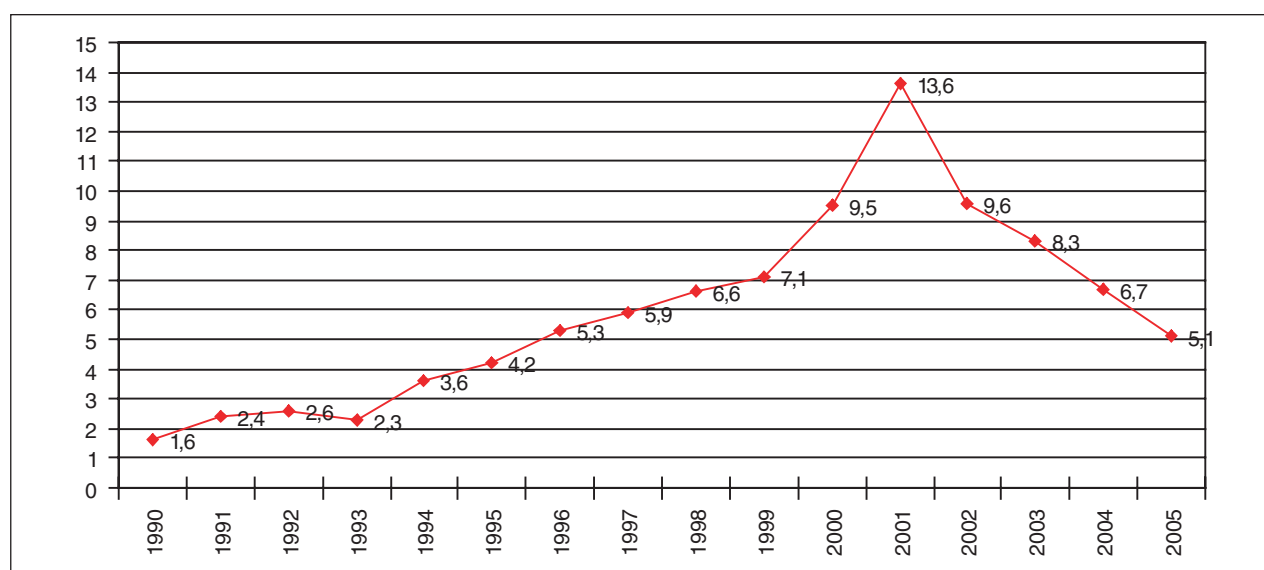
mohou některé nepatogenní bakterie působit obtíže při diagnostice (zvláště při přímé zástinové mikroskopii) – *Treponema denticola* (1, 11, 23).

Kontagiozita

Treponema pallidum subsp. *pallidum* je mimořádně citlivá k podmínkám vnějšího prostředí. Vzhledem k tomu je nejčastěji přenesena velmi intimním kontaktem – pohlavní styk, vertikální přenos z matky na plod, výjimečně ostatními způsoby. Profesionální infekce je možná na dermatovenerologických, gynekologických, neonatologických, stomatologických (z lézí v dutině ústní) pracovištích, v laboratořích pracujících s lidským biologickým materiálem nebo s živým virulentním kmenem *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, kde obvykle hraje roli zanedbání bezpečnostních předpisů – nepoužívání ochranných pomůcek, porušení režimu práce s biologickým materiálem. Průměrně 30% infekčnost se v časném období (do 2 let po infekci) pohybuje od 10 do 60 % (uplatňuje se vliv prostředí, velikost infekční dávky, vlastnosti mikro- i makroorganismu). Je vázána na kontakt s materiálem obsahujícím živá virulentní treponemata. S trváním infekce a přechodem do pozdního latentního období nemoci postupně klesá.

Epidemiologie

Incidence nově zachycených onemocnění v ČR se od

**Graf 1. Incidence syfilidy na 100 000 obyvatel v ČR 1990–2005.**

roku 1990 značně zvýšila (graf 1), podobná situace postihuje od roku 2000 také státy EU (Velká Británie, Německo, Holandsko, Belgie). Velkou roli v šíření v populaci hraje zejména rizikové sexuální chování a rovněž příliv migrantů z oblastí s nesrovnatelně vyšší incidencí (6, 16) (graf 1).

Diagnostika

Vzhledem k závažnosti a povaze onemocnění není indikována pouze klinickým podezřením, ale je rovněž součástí obligátních vyšetřovacích schémat (Zákon č. 258/00 Sb., vyhláška č.195/05 Sb.):

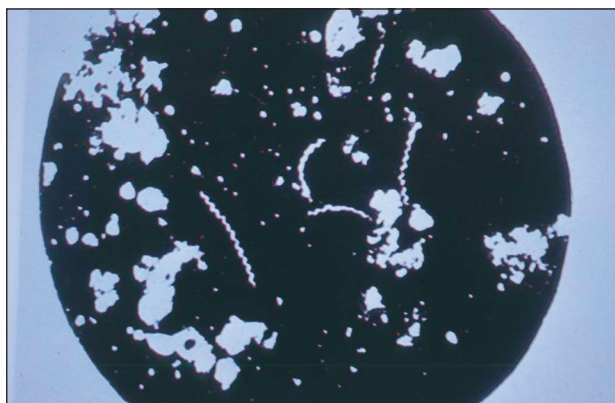
- u dárců krve, tkání a orgánů
- v rámci prenatální péče
- základní screening novorozenců
- předoperační příprava
- za hospitalizace

Rozsah povinného základního vyhledávacího vyšetření na příjici je specifikován ve vyhlášce č. 195/2005 Sb. § 7 odst. 2: ... „Lékař dále provádí klinické a **sérologické vyšetření na příjici s použitím jedné nespecifické a jedné specifické reakce** u všech těhotných žen ve 3. a 7. měsíci těhotenství, i pupečnickové krve každého novorozence, u každé ženy před provedením interupce“. **Nedodržení těchto norem může následovat postih** (4, 7, 11).

Přímá diagnostika

Detekce bakterie TPP v biologickém materiálu je vhodná prakticky pouze pro manifestní stadia, kdy je biologický materiál s treponematy přístupný odběru a kdy lze očekávat jejich přítomnost v dostatečném množství. Využití a standardizace přímých testů jsou však ovlivněny celou řadou podmínek, které mohou výrazně snížit citlivost vyšetření (lidský faktor, časová prodleva, náklady na provedení testu a jeho skutečný význam pro konkrétní stanovení diagnózy).

Zástinová mikroskopie – základní, standardní vyšetření při podezření na syfilitickou lézi na kůži nebo sliznici. Umožňuje vyšetřit serózní exsudát ze syfilitických lézí, likvor (CSF), amniovou tekutinu apod. (obr. 1, 2, 3).



Obr. 1. *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* v zástinu (podle Štávy).



Obr. 2. Syfilis I erosiva na vnitřním listu předkožky.



Obr. 3. Syfilis I – ulcus durum v koutku úst.

Jde o vyšetření nativního preparátu a vyžaduje okamžité zpracování zkušeným personálem. Identifikace bakterie spočívá v posouzení morfologie a motility (značné ovlivnění viskozitou prostředí a subjektivní chybou) (1, 8, 9, 10). Metoda není vhodná pro vyšetření tkání (z technických důvodů), vzorky odebrané z ústní dutiny mohou být falešně pozitivní, je možná záměna se zcela morfologicky shodnou, nepatogenní *Treponema denticola* (11).

Přímá imunofluorescence (DFA-TP) – klade sice stejné nároky na erudici personálu při odběru a zpracování vzorku, umožňuje však vyšetřovat fixovaný preparát (serózní exsudát z lézí, CSF, amniovou tekutinu, tkáň) s časovým odstupem v adekvátně vybavené laboratoři. Eliminuje také problém morfologické shody s nepatogenními treponematy z ústní dutiny. Nevýhodou jsou náklady na techniku (fluorescenční mikroskop) a nedostupnost komerčního diagnostika na našem trhu.

Impregnace kovy (stříbření) – původní histologická metodika je zdlouhavá a zatížená řadou artefaktů (změna morfologie mikrobů).

Inokulace zvířecímu hostiteli (RIT – Rabbit Infectivity Test) – zcela experimentální metoda, která nemá pro klinickou praxi reálný diagnostický význam.

Molekulární diagnostika (PCR – Polymerase Chain Reaction, polymerázová řetězová reakce) je amplifikační

metoda pro průkaz specifických konzervativních úseků genomu. Namnožení specifických cílových sekvencí pomocí polymerázové řetězové reakce umožňuje amplifikaci cílové sekvence v genetickém materiálu, řádově nejméně 10^9 . Využití PCR k přímému průkazu DNA *TPP* v suspektních lézích a v likvoru přináší téměř 100% specifitu (treponemata, která se vyskytují v naší zeměpisné oblasti mají pouze 5% homologii genomu s *TPP*). Citlivost testu je srovnatelná s RIT a blíží se 1 mikroorganismu/5 μ l. Jako biologický materiál pro průkaz přítomnosti mikroba lze použít stěry z lézí, biopsii, plnou krev, CSF, tkáň, amniovou tekutinu, placentární trofoblastické klky, do parafinu zalité tkáň. Materiál není nutné zpracovávat bezprostředně po odběru a je možné jej přepravovat bez zvláštních opatření, pokud je cílovou molekulou DNA. Stanovení přítomnosti *TPP* v CSF je specifické (není zkřížená reaktivita s boreliemi či jinými bakteriemi, případně viry) a má rozhodující vliv na prognózu onemocnění i strategii terapie (3, 9, 17).

Přímá hybridizace je diagnostika pomocí vazby definovaného úseku genetického materiálu patogenu se specifickou značenou sondou, pro průkaz původce syfilisu je většinou málo citlivá.

Nepřímá diagnostika

Průkaz protilátek v séru, plazmě nebo CSF; u imunokompetentního pacienta je možné nalézt protilátkovou odpověď na přítomnost treponemat sérologickými testy zhruba od 4.–5. týdne po infekci a dále většinou během celého života (a to i po úspěšné léčbě, tř. IgG) (obr. 4, 5). Spolehlivost a reprodukovatelnost vyšetření protilátek v krvi a likvoru je důvodem jeho nezastupitelnosti při rutinní diagnostice (7, 8, 11, 12, 13, 20, 21).

Netreponemové testy zahrnují průkaz nespecifických antikardiolipinových protilátek (mikro- a makroflokulační metodiky – RPR, VDRL aj.). Jsou využívány (v kombinaci s treponemovými testy) ke screeningu a k posouzení aktivity choroby a úspěšnosti léčby (vzestup, resp. pokles titru protilátek). Jsou však zatíženy poměrně vysokým procentem (2–10 %) falešně pozitivních výsledků (tab. 2) a také výskytem falešně negativních reakcí



Obr. 4. Syfilis II maculosa na trupu.



Obr. 5. Syfilis II na jazyku – plaques lisses.

(v počátku onemocnění před sérokonverzí; u pozdní latentní syfilidy představuje až 30 % případů; zonální fenomén u akutní syfilidy). **Zonální fenomén** se může projevit u sér s vysokým titrem specifických a nespecifických protilátek v době akutní syfilidy (1–2 %) a znamená únik aktivních, infekčních případů onemocnění. V tomto případě je v neředěném séru výsledek vyšetření negativní, se stoupajícím ředěním dochází k rozvoji pozitivní reakce až do endpointu titrace. Vzhledem k uvedeným skutečnostem není vhodné používat netreponemové testy jako jediný screeningový test. **Protilátky jsou detekovatelné již cca 4 týdny po infekci.**

Tab. 2. Příčiny falešně pozitivních výsledků v netreponemových testech

Akutní	Chronické
Hepatitidy	autoimunitní onemocnění
Příušnice	abnormality imunoglobulinů
Infekční mononukleóza	užívání drog
Plané neštovice	stáří
Ostatní virové infekce	lepra
Malárie	malignity
Rozsáhlý infarkt myokardu	nevenerecké treponematózy
Rozsáhlé poškození tkáně (popáleniny, crush sy)	
Očkování	
Gravidita	
Užívání drog	

VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) **mikrotest** je mikroskopický netreponemový test vhodný k vyšetření séra i likvoru (podle WHO je jediným z netreponemových testů určeným pro standardní vyšetření likvoru). Má všechny přednosti i nedostatky své skupiny, včetně výskytu zonálního fenoménu.

RPR (Rapid Plasma Reagin) **test** – obdoba VDRL mikrotestu s makroskopicky vizualizovanou reakcí (karbonové částice, pigmenty).

Treponemové testy jsou založeny na principu detekce specifických protilátek proti antigenům *TPP* (lipoprotei-

nům). Patří k nim testy screeningového panelu (TPHA, TP-PA, EIA, ELISA, chemiluminiscence) i konfirmační testy k ověření diagnózy. Je možno jimi odděleně vyšetřovat IgM třídu protilátek (posouzení aktivity syfilidy a úspěšnosti léčby, intrauterinní infekce). Samozřejmě i zde je nutné počítat s možným výskytem falešně negativních reakcí, zejména v inkubační době a na počátku I. stadia (cca 2 % u testů pro třídu IgG a až 30 % u testů pro třídu IgM), a falešně pozitivních (cca 1–2 %) reakcí (tab. 3). **Sérokonverzi jsou schopny zachytit okolo 5.–6. týdne po infekci.**

Tab. 3. Příčiny falešně pozitivních reakcí v treponemových testech

Akutní	Chronické
Hepatitidy	autoimunitní onemocnění
Borelióza	abnormality imunoglobulinů
Infekční mononukleóza	nevenerické treponematózy
Malárie	malignity
Očkování	
Užívání drog	
Idiopatické	

1. Screeningové treponemové testy – v průběhu vývoje od 60. let (hemaglutinace) až po současnost (ELISA, imunochromatografie, chemiluminiscence) se zvýšila jejich specifita a citlivost. Pozitivita přetrvává dlouhodobě i po úspěšné léčbě a je obrazem prodělané infekce. Protilátky zachycované těmito testy přestupují placentární bariéru (tř. IgG), a nejsou proto vhodné pro diagnostiku infekce plodu.

MHA-TP (Microhemaglutinace *Treponema pallidum*) – obdoba dřívějšího zkumavkového TPHA testu (*Treponema pallidum* haemaglutinace) v mikrotitračních destičkách. Nosičem specifických antigenů jsou zvířecí krvinky. Pracuje s minimálním množstvím séra, plazmy nebo likvoru.

TP-PA (*Treponema Pallidum Particule Agglutination*) – principiálně shodný test s MHA-TP. Nosičem specifických antigenů jsou namísto zvířecích krvinek inertní želatinové barevné částice, což vede k vyšší stabilitě vyrobených šarží testů.

ELISA a EIA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay, Enzyme Imuno Assay) – varianty total (pro všechny třídy protilátek současně) a pro stanovení tř. IgG jsou vhodné ke screeningovému vyšetření séra, plazmy nebo likvoru. Vývoj přináší na trh stále citlivější diagnostiku s odpovídající specificitou. Jsou vhodné zejména pro vyšetřování větších skupin vzorků, umožňují automatizaci. Vyhovují podmínkám správné laboratorní praxe a nutnosti dokumentovat každý procesní krok reakce.

Imunochromatografické testy – jsou určeny pro rychlou diagnostiku v urgentních případech nebo v terénních studiích s rizikem nižší citlivosti u počínajících a vyhasínajících onemocnění. Detekují přítomnost všech tříd protilátek společně vizualizovaných barevně v reakci se specifickými antigeny fixovanými v nitrocelulózové membráně.

Latex-aglutinační testy – stanoví přítomnost specifických protilátek bez rozlišení třídy aglutinací latexových částic nesoucích specifické antigeny *TPP*. Jsou rovněž určeny pro rychlé vyhledávací testování.

Chemiluniscenční testy (CLIA) – stanoví přítomnost protilátek odečtením kvanta světelné energie vyzařené po reakci konjugátu vázaného na specifické protilátky se startovací reagensy.

2. Konfirmační testy – slouží k ověření positivity vyhledávacích reakcí a potvrzení diagnózy. Skupina zahrnuje metody pro detekci protilátek ve třídě IgG a IgM (detekce IgM slouží k posouzení aktivity onemocnění a úspěšnosti léčby).

FTA-ABS (fluorescenční-absorbční) IgG test – je považován za standardní konfirmační test s vysokou citlivostí (sérokonzerve opakovaně dokumentována již ve 2. týdnu po infekci) a specifícností. Jako antigen pro vazbu protilátek využívá přímo usmrcené *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* kmene Nichols. Specifícnost reakce je zvýšena vysycením společných protilátek (např. s rody *Borrelia* a *Leptospira*) sorbentem připraveným z *Treponema phagedensis* Reiter.

Westernblot IgG – umožní identifikaci protilátek proti jednotlivým hlavním antigenům *Treponema pallidum* (získaným z virulentního kmene Nichols) a tím i lepší posouzení vývoje onemocnění. Jednotlivé třídy protilátek se odlišují monospecifickými konjugáty (11,15).

Immunoline assay IgG – identifikace protilátek ve tř. IgG proti hlavním antigenům *Treponema pallidum* připraveným rekombinantně nebo synteticky.

TPI (Nelsonův-Mayerův *Treponema pallidum* imobilizační test) – první specifický test uvedený do praxe na konci 40. let 20. století. Protilátky (imobiliziny, které za účasti komplementu způsobují imobilizaci a následnou lýzu buněk *TPP*) se objevují na přelomu primárního a sekundárního stadia syfilidy. Původně byl považován za doživotní marker kontaktu s infekcí. Během let praxe a ve srovnání s ostatními specifickými testy se však ukázalo, že dochází po delší době ke spontánní negativizaci (vymizení imobilizinů) i u pacientů s neléčeným onemocněním. Přestože je zatížen pouze malým procentem falešně pozitivních reakcí, nároky na provedení testu (vybavení laboratoře, dostupnost živého virulentního kmene *TPP*, vyškolený personál) odsouvají metodiku mezi superkonziliární konfirmační vyšetření.

FTA-ABS IgM – využívá konjugát proti lidským IgM protilátkám. Vzhledem ke kompetici IgG a IgM protilátek o antigenní determinanty *Treponema pallidum* v průběhu reakce je jeho citlivost malá.

19S IgM FTA-ABS – vzhledem k nutné předchozí separaci IgM frakce séra je tento specifický a citlivý test určen spíše pro experimentální práci.

19S IgM SPHA (19S IgM Solid Phase Haemadsorption) – test je založený na principu capture (vychytní) IgM protilátek z vyšetřovaného materiálu před vizuali-

zací (nosičem specifických antigenů jsou zvířecí krvinky nebo syntetické mikropartikule). Tento princip zvyšuje citlivost metodiky. Dále je možné určení titru protilátek a jeho následné sledování v průběhu dispenzární péče.

ELISA IgM – moderní testy řeší řadu úskalí vyšetření protilátek IgM třídy a postupně se stávají citlivějšími a specifitějšími. Uplatní se při posuzování aktivity onemocnění a odlišení syphilis congenita.

Western blot IgM – umožní identifikaci protilátek v dané třídě proti jednotlivým hlavním antigenům *Treponema pallidum* a tím i lepší posouzení vývoje onemocnění.

V rámci řešení grantového úkolu IGA MZ: „Porovnání sérologických screeningových a konfirmačních metod v diagnostice syfilidy“ byla v průběhu let 2004–2005 vzájemně porovnána senzitivita 11 sérologických metod sloužících k diagnostice syfilidy. Byly použity referenční screeningové metody: TPPA (Fujirebio), VDRL, ELISA screen TA (Bio-Rad), ELISA total Pathozyme syphilis competition (Omega), Rapid test Determine TP (Abbot) a referenční konfirmační sérореakce: 19S IgM SPHA, FTA-ABS IgG, IgM, ELISA IgM (Dia.Pro) a Western blot IgG a IgM (MarDx).

Celkem bylo testováno 212 sér, u nichž bylo známo, že obsahují antitreponemové protilátky prokázané minimálně jedním treponemovým a jedním netreponemovým testem. Celkem 109 sér pocházelo z NRL pro diagnostiku syfilidy a 103 ze sérologické laboratoře Ústavu klinické biochemie. V 92 případech se jednalo o nové záchyty, tzn. že séra byla vyšetřena před léčbou a ve 120 případech se jednalo o léčenou syfilidu, nejčastěji ve stadiu pozdní latence. Séra byla získána od 80 žen a 132 mužů.

Při porovnání všech sérologických nálezů **bez ohledu na stadium onemocnění** vykazoval při detekci IgG nejvyšší citlivost Western blot IgG, TP-PA, Elisa screen TA (shodně 99,5 %), Rapid test Determine byl pozitivní v 98,1 %, nižší citlivost měl FTA-ABS IgG (96,2 %) a Elisa total Pathozyme syphilis competition (89,2 %).

U neléčené syfilidy vykazovaly nejvyšší citlivost metody Western blot IgG, TP-PA, EIA screen TA (shodně 98,9 %).

Testy detekující IgM protilátky byly vzhledem k částečné absenci anamnestických dat hůře porovnatelné. Western blot IgM byl pozitivní v 18,8 %, ELISA IgM v 15,6 %, 19S IgM SPHA ve 38,6 % případů neléčené syfilidy. To znamená, že 19S IgM SPHA vykazoval vyšší procento biologicky falešně pozitivních výsledků.

U léčené syfilidy došlo při použití testu VDRL k poklesu u 36,4 % pozitivních nálezů. Ostatní testy detekující IgG protilátky byly srovnatelné s výjimkou testu ELISA total Pathozyme syphilis competition, který vykazoval pouze 73,9% citlivost.

Podrobnější závěry včetně vyšetření kontrolní skupiny dárců krve budou předmětem dalšího sdělení.

I přes rozsáhlou škálu klasických přímých i nepřímých testů zůstává řada situací, ve kterých mohou být výsledky

vyšetření problematické a neumožňují rychlé a spolehlivé stanovení diagnózy, jde zejména o:

- **Syphilis congenita** – laboratorní diagnostika se v současné době rutinně opírá pouze o průkaz IgM protilátek, které nepronikají přes placentární bariéru (na rozdíl od IgG), přímé testy běžně využívány nejsou. Zhodnocení sérologie je však zatíženo řadou fyziologických i patologických jevů, umožňujících sérologické stanovení diagnózy až po 18. měsíci věku (úplné vymizení pasivně přenesených protilátek) (21). U novorozence je tedy diagnóza stanovena vždy na základě anamnézy matky, klinického stavu dítěte a nálezu protilátek v séru.
- **Neurosyphilis** – obtížné odlišení intrathekální produkce imunoglobulinů, nutnost posoudit porušení hematoencefalické bariéry (**naprosto nezbytný je současný odběr krve spolu s likvorem**).
- Posouzení **infekčního rizika** – žádný z přímých testů není schopen spolehlivě detekovat přítomnost treponemat v krvi. Protilátky (IgM) mohou pouze naznačit aktivitu procesu.

Nemožnost kultivovat *TPP in vitro* je významným nedostatkem při objektivním průkazu syfilidy. S rozvojem molekulární biologie a diagnostiky se nabízí nové možnosti. Standardní test odpovídající správné laboratorní praxi (včetně kontroly falešně negativních výsledků) vhodně doplní sérologické testy, které v diagnostice syfilidy mají klíčovou a nezastupitelnou roli. PCR lze použít k typizaci kmenů (epidemiologie syfilidy a nevenerických treponematóz) na základě specifických sekvencí, ale i ke kvantifikaci mikroorganismů, dále k rozlišení živých a mrtvých buněk na základě genové exprese pomocí RT-PCR (reverzní PCR) a k průkazu DNA TPP v biologických archivních materiálech atd.

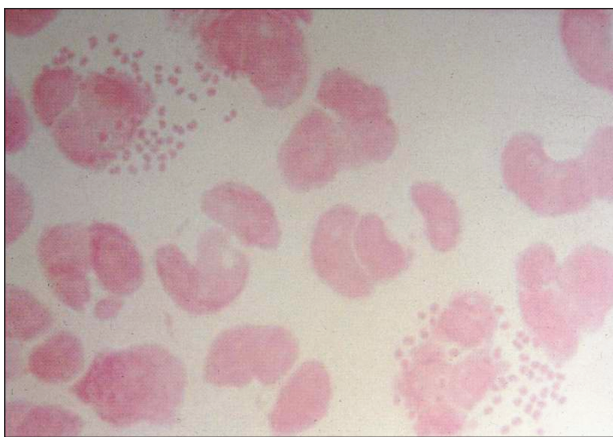
V případě využití této metodiky lze při diagnostice syphilis congenita dosáhnout maximální možné spolehlivosti vyloučením interference s organismem matky v důsledku pasivního přenosu protilátek, jak bylo prokázáno na morčatech.

Multiplexní PCR umožňuje současný průkaz více původců (mikrobiálních i virových) genitálních lézí z jednoho vzorku.

Molekulárně biologické technologie, včetně PCR, lze použít i k průkazu příčiny rezistence TPP na antibiotika, např. makrolidy, tetracykliny.

KAPAVKA (GONORRHOEA)

Tato klasická pohlavní nemoc je známá již po staletí. Přes poměrně snadnou léčitelnost ale zůstává významným zdravotním problémem zejména v souvislosti s ostatními STI včetně HIV/AIDS a rozvojem rezistence vůči antibiotikům u některých kmenů gonokoků (např. fluorochinolonům – Velká Británie 9,8 % v roce 2002) (19) (obr. 6–8).



Obr. 6. *Neisseria gonorrhoeae* v barvení podle Grama – gramnegativní diplokoky intra- i extracelulárně.



Obr. 7. Akutní kapavka u ženy.



Obr. 8. Kapavčitá konjunktivitida.

Etiologie

Čeď: *Neisseriaceae*

Rod: *Neisseria*

Druh: *Neisseria gonorrhoeae* (NG)

Mezi příbuzné druhy se řadí *Neisseria meningitidis*, která může být příležitostně původcem uretritidy (v souvislosti s orálním sexem), a nepatogenní orální neisserie.

Epidemiologie

Na rozdíl od syfilidy zaznamenala incidence kapavky po roce 1990 výrazný pokles hlášených případů (graf 2). Důvody pro tento vývoj mohou být různé – zvažuje se například snížení virulence kmenů NG. Realističtější se však jeví předpoklad, že jde o podhlášenost infekce (po úspěšné léčbě zpětně v praxi nedidiagnostikovatelné) a empirickou samoléčbu podle symptomů nebo u osob ve zvýšeném riziku (1, 16, 23).

Diagnostika

Rovněž NG je velice náročná na životní podmínky, nesnáší vysoušení a nízké teploty, z toho plynou nároky na *in vitro* kultivaci původce. Transport provádíme vždy v transportní půdě s aktivním uhlím nebo speciální pro gonokoky (zachování vlhkosti a stabilního netoxického prostředí), s nejkratší možnou časovou prodlevou, za stálé teploty (ideálně se blíží 36 °C).

Pro molekulárně genetické metody je třeba přesně dodržovat návod výrobce (možná inhibice reakce PCR při nesprávném odběru) a omezení týkající se validity vyšetření pro vzorky z různých odběrových míst (za standardní se obvykle považuje odběr první porce moči nebo výtěr z uretry a cervixu) (1, 14, 23).

Přímá diagnostika

Je hlavním těžištěm průkazu infekce.

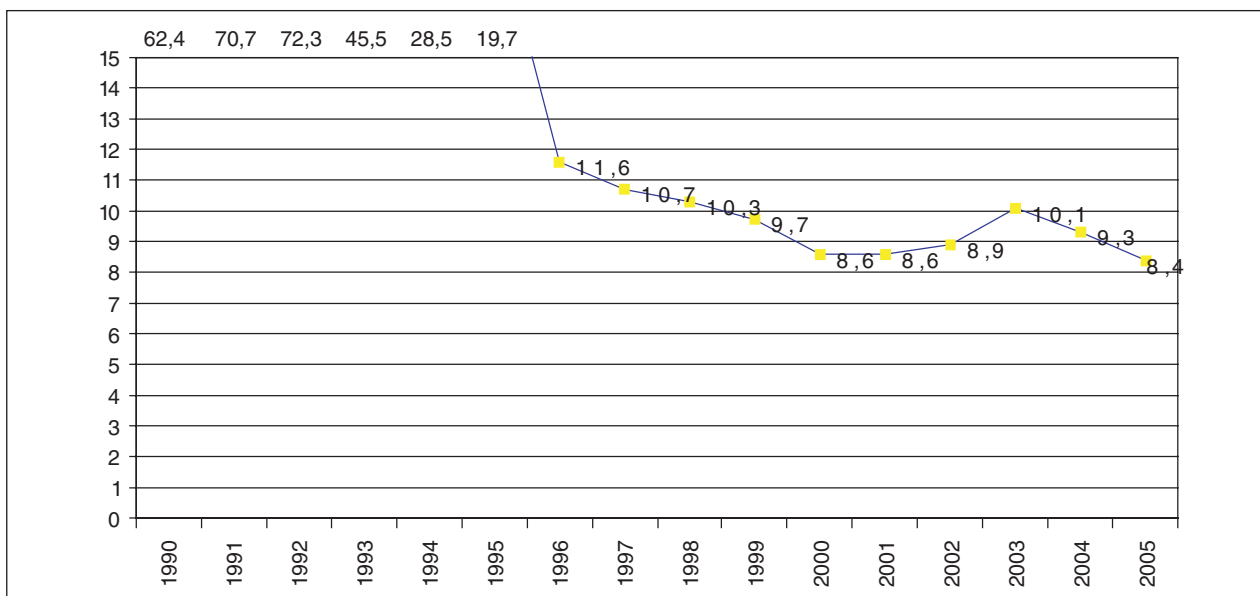
Mikroskopie – standardně v barvení podle Grama je považována za orientační test – morfologická shoda zástupců rodu *Neisseria* (možná záměna např. s *Neisseria meningitidis*). Za diagnostickou ji podle norem EU (Rozhodnutí 2000/96/EC) můžeme považovat snad pouze u nekomplikované mužské uretritidy (pozor na orální sex v anamnéze – *Neisseria meningitidis*). Přesto ale může být jediným pozitivním vyšetřením v případě, že se nepodaří v průběhu transportu uchovat gonokoky schopné kultivace.

Kultivace – je základem standardní diagnostiky a umožňuje provedení přesné biochemické identifikace etiologického agens (utilizace cukrů atd.) a stanovení citlivosti na antibiotika včetně detekce β -laktamázy. K selhání dochází často při nesprávném odběru nebo transportu vzorků, u pacientů, kteří užívali antibiotika, u chronických onemocnění apod. (citlivost cca 70 %) (14).

Detekce DNA – hybridizace nebo PCR – moderní technologie, umožňující průkaz NG s velkou citlivostí (zejména PCR jako amplifikační metoda – 98,8 %) i v hraničních situacích a s forenzní přesností. Přesto jsou i tyto postupy zatíženy problémy komplikujícími klinickou praxí. Patří k nim zejména nemožnost testovat citlivost na antibiotika (i když existují přístupy k detekci genů rezistence), záchyt DNA mrtvých gonokoků po léčbě, **falešná zkřížená pozitivita s některými druhy orálních neisserií a laktobacilů** (14).

Nepřímá diagnostika

Průkaz protilátek u kapavky se v praxi nevyužívá.



Graf 2. Incidence syfilidy na 100 000 obyvatel v ČR 1990–2005.

ULCUS MOLLE (MĚKKÝ VŘED, CHANCROID)

STI projevující se bolestivými ulcerativními lézemi na genitálu s reakcí spádových uzlin. V endemických oblastech (tropy a subtropy) se vyskytuje často v kombinaci s jinou STI (syfilis).

Etiologie

Čeď: *Pasteurellaceae*

Rod: *Haemophilus*

Druh: *Haemophilus ducreyi*

Epidemiologie

U nás nebyl v posledních letech hlášen (16). Vzhledem k turistice, včetně sexuální, může ale snadno dojít k jeho zavlečení, a to i z oblastí méně exotických (USA, EU) (1, 5, 23).

Diagnostika

Přímá diagnostika

Mikroskopie – vzorek přímo z vředu nebo uzliny v barvení podle Grama – drobné gramnegativní kokobacily charakteristicky uspořádané paralelně ve shlucích či krátkých řetězcích (jako „hejno ryb”). Vyžaduje správný odběr a aplikaci materiálu na podložní sklíčko (valivým pohybem odběrového tamponu).

Kultivace – na speciálních půdách za vyšší tenze CO₂ v kultivační atmosféře. Optimální kultivační teplota je 33–35 °C. Vzhledem k vzácnosti tohoto onemocnění v našich podmínkách je nutné si s příslušným mikrobi-

logickým pracovištěm provedení kultivace individuálně domluvit.

Průkaz DNA – PCR metodou je dostupný v endemických oblastech.

V případě, že by byla zapotřebí DNA diagnostika, je možno se obrátit na Státní zdravotní ústav Praha, NRL pro hemofilu.

Nepřímá diagnostika

Průkaz protilátek se neuvádí. Dříve se prováděl kožní Ducreyův test – intradermální aplikace inaktivovaných hemofilů (1, 5, 23).

LYMPHOGRANULOMA VENEREUM (LGV)

Infekce způsobuje zpravidla rozsáhlý destruktivní zánět s rozpadem tkáně a výrazným postižením lymfatických uzlin. Projevy jsou bolestivé a postihují perigenitální oblast a často také konečník (22). Následuje hojení jizvou s tendencí k deformacím (1, 5, 22, 23).

Etiologie

Čeď: *Chlamydiae*

Rod: *Chlamydia*

Druh: *Chlamydia trachomatis*, sérotypy L₁, L₂, L_{2a}, L₃

Epidemiologie

Zhruba od roku 2003 jsou v některých státech EU (Holandsko, SRN, Španělsko) zachycovány případy LGV u mužů majících sex s muži. Import tohoto onemocnění je tedy pouze otázkou času (22).

Diagnostika

Přímá diagnostika

Imunofluorescenční mikroskopie – přítomnost chlamydií v materiálu z vředů nebo lymfatických uzlin.

Kultivace – na buněčných kulturách s následnou imunofluorescenční mikroskopii, citlivost 70–85 %.

Průkaz DNA – PCR (citlivost 90–98 %) s následnou genotypizací k odlišení ostatních non-LGV chlamydií (po konzultaci v NRL pro chlamydie, Státní zdravotní ústav Praha 10).

Nepřímá diagnostika

Sérologický průkaz je méně informativní, je vhodné zachytit vzestup protilátek (ELISA, MIF – mikroimunofluorescence) proti druhově specifickým antigenům (vnějším membránovým proteinům).

LITERATURA

- BEDNÁŘ, M., et al. *Lékařská mikrobiologie*. Praha: Marvil, 1996, 558 p.
- BRAUN-FALCO, O., et al. *Dermatologie a venerologie*. Bratislava: Osveta, 2001, p. 113–147. ISBN 80-8063-080-1
- BURSTAIN, JM., et al. Sensitive Detection of *Treponema pallidum* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, 1991, 29, p. 62–92.
- CLYNE, B., JERRARD, DA. Syphilis testing (1). *J Emerg Med*, 2000, 18, p. 436–441.
- CDC. Sexually Transmitted Diseases treatment guidelines. *Morbidity and mortality weekly report*, 2006, 55, 100p.
- //data.euro.who.int/CISID/
- HART, G. Syphilis tests in diagnostic and therapeutic decision making. *Ann Intern Med*, 1986, 104, p. 368–376.
- HOOK, EW. Syphilis and HIV. *J Infect Dis*, 1989, 160, p. 530–534.
- GRIMPREL, E., et al. Use polymerase chain reaction and rabbit infectivity testing to detect *Treponema pallidum* in amniotic fluid, fetal and neonatal sera and cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol*, 1991, 29, p. 1711–1718.
- JETHWA, HS., et al. Comparison of molecular and microscopic techniques for detection of *Treponema pallidum* in genital ulcers. *J Clin Microbiol*, 1995, 33, p. 180–183.
- LARSEN, AA., POPE, V., JOHNSON, RE. *A manual of test for syphilis*. 9. ed. Washington: APHS, 1998, 378 p. ISBN 0-87553-234-9
- LARSEN, SA., et al. Laboratory diagnosis and interpretation of test for syphilis. *Clin Microbiol Rev*, 1995, s. 1–21.
- LEWIS, LL., et al. Evaluation of immunoglobulin M western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. *J Clin Microbiol*, 1990, p. 296–302.
- LUIJT, DS., BOS, PAJ., VAN ZWET, AA., et al. Comparison of COBAS AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR, including confirmation with *N. gonorrhoeae*-specific 16S rRNA PCR, with traditional culture. *J Clin Microbiol*, 2005, 43, p. 1445–1447.
- MEYER, PM., et al. Analysis of western blotting (immunoblotting) technique in diagnosis of congenital syphilis. *J Clin Microbiol*, 1994, p. 629–633.
- Pohlavní nemoci 2005*, Praha: ÚZIS, 2005.
- POPE, V., FOX, K., et al. Molecular subtyping of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* from North and South Carolina. *J Clin Microbiol*, 2005, p. 3743–3746.
- RESL, V. Přehled a možné perspektivy vývoje situace STD/HIV/AIDS v České republice v posledních 10 letech. *Čes-slov Derm*, 2001, 76, p. 323–326.
- RUDD, E., FENTON, K., ISON, C. Cirpofloxacin resistant gonorrhoea in England and Wales – a changing epidemiology? *Eurosurveillance Weekly*, 2004, 33, p.5–8.
- SCHMID, GP. Serologic screening for syphilis. *Sex Transm Dis*, 1996, p. 45–50.
- SRIVINIVASAN, DK., et al. Congenital syphilis: a diagnostic and therapeutic dilemma. *Pediatr Infect Dis*, 1983, 2, p. 436–441.
- VALL MAYAS, SB., et al. First case of LGV confirmed in Barcelona. *Eurosurveillance weekly*, 2005, 10, p. 3–4.
- VOTAVA, M., et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, 495 p. ISBN 80-902896-6-5

Došlo do redakce: 6. 12. 2006

MUDr. Hana Zákoucká
Dermatovenerologická klinika VFN
U Nemocnice 2
128 08 Praha 2
E-mail: hana.zakoucka@vfn.cz

DOŠKOLOVÁNÍ LÉKAŘŮ – KONTROLNÍ TEST

DIAGNOSTIKA KLASICKÝCH POHLAVNÍCH CHOROB

(jsou možné 1–4 správné odpovědi)

1. Jaké postupy lze požit k přímému průkazu *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*?
 - a) kultivace in vitro
 - b) mikroskopie v barvení podle Grama
 - c) nástinová mikroskopie
 - d) průkaz DNA, RNA
2. Proti kterému antigenu(ům) se tvoří netreponemové protilátky?
 - a) lipopolysacharidu
 - b) lipoproteinům *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*
 - c) kardiolipinu
 - d) flagelinu
3. Proti kterému antigenu(ům) se tvoří treponemové protilátky?
 - a) kardiolipinu
 - b) lipopolysacharidu
 - c) lipoproteinům *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*
 - d) DNA
4. Je mikroskopie podle Grama dostačující pro stanovení diagnózy kapavky?
 - a) ano, vždy
 - b) ano, ale pouze u mužské uretritidy
 - c) ano, ale pouze u ženské cervicitidy
 - d) ne
5. Lymphogranuloma venereum je způsobeno?
 - a) *Chlamydia trachomatis* – sérotypy L₁, L₂, L_{2a}, L₃
 - b) *Ureaplasma urealyticum*
 - c) *Chlamydia trachomatis* – sérotypy D-K
 - d) HPV
6. Který z druhů rodu *Treponema* může být zaměněn při nástinové mikroskopii za *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*?
 - a) *Treponema phagedenis*
 - b) *Treponema hyodysenterie*
 - c) *Treponema luiscuniculi*
 - d) *Treponema denticola*
7. Původcem ulcus molle je?
 - a) *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*
 - b) *Neisseria gonorrhoeae*
 - c) *Haemophilus ducreyi*
 - d) *Haemophilus influenzae*
8. Původcem kapavky je?
 - a) *Neisseria meningitidis*
 - b) *Neisseria gonorrhoeae*
 - c) *Neisseria subflava*
 - d) *Haemophilus ducreyi*
9. Původcem venerické syfilidy je?
 - a) *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*
 - b) *Treponema carateum*
 - c) *Treponema pallidum* subsp. *pertenue*
 - d) *Treponema denticola*
10. Screeningové vyšetření na syfilidu se provádí?
 - a) netreponemovým testem
 - b) treponemovým testem
 - c) PCR
 - d) kombinací jednoho netreponemového a jednoho treponemového testu

Pozn. Správným zodpovězením otázek kontrolního testu získáte 6 kreditů kontinuálního vzdělávání lékařů ČLK. Správné odpovědi na otázky kontrolního testu budou uveřejněny v příštím čísle časopisu. Ti z vás, kteří chtějí být zařazeni do slosování o ceny 82. ročníku časopisu roku 2007, necht' zašlou správné odpovědi na kontrolní test na adresu redakce (Dermatovenerologická klinika 1. LF UK a VFN, U nemocnice 2, 128 00 Praha 2) vždy nejpozději do jednoho měsíce od vydání daného čísla.

Správné odpovědi na otázky kontrolního testu k článku publikovaném v č. 1/2007:

Pánková, R., Taraba, P.: Psychodermatologie a psychosomatický přístup.

Správné odpovědi: 1a,b, 2a,b,c,d, 3b, 4a,b,c,d, 5a,b,c,d, 6a,b,c,d 7a,b,d, 8b,c,d, 9a,b,c,d, 10a,b,c,d.