

Klinický materiál pro průkaz syfilis metodou polymerázové řetězové reakce

Woznicová V., Votava M., Flasarová M.

Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně, Brno

Souhrn

Práce podává přehled klinického materiálu používaného pro diagnostiku syfilis metodou polymerázové řetězové reakce. PCR je rutinní metodou detekce *T. pallidum* ve stěrech z ulcerací a v kožně-slničních projevech primární a sekundární syfilis. Vyšetřit lze i nesrážlivou krev, mozkomíšni mok, amniovou tekutinu, punktáty, bioptický materiál i fixované tkáně. Pro vyšetřování těchto materiálů v klinické praxi je však nutno získat více zkušeností především s citlivostí PCR v různých stádiích syfilis.

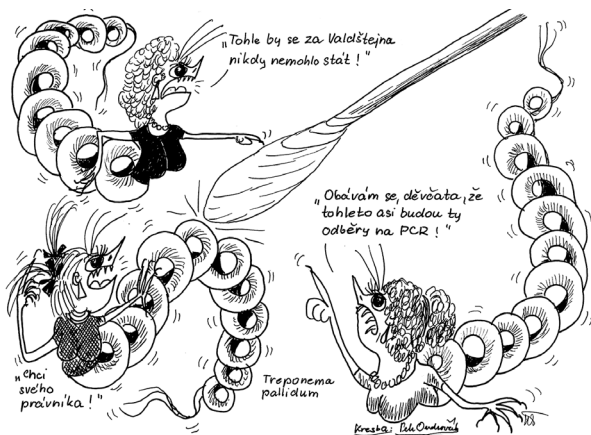
Klíčová slova: syfilis – *T. pallidum* – klinický materiál – PCR.

Summary

Woznicová V., Votava M., Flasarová M.: Clinical Specimens for PCR Detection of Syphilis

A review is presented of types of clinical specimens used for diagnosis of syphilis by polymerase chain reaction. PCR is a routine method for detection of *T. pallidum* in swabs of chancres and primary and secondary syphilis mucocutaneous lesions. Whole blood, cerebrospinal fluid, amniotic fluid, aspirate and biopsy specimens, and paraffin-embedded tissues can also be tested by PCR for *T. pallidum*. However, further research on PCR detection sensitivity at various stages of syphilis is needed before these specimens are used in clinical practice.

Key words: syphilis – *T. pallidum* – clinical specimens – PCR.



Syfilis – epidemiologické a klinické aspekty. Syfilis zůstává i ve třetím tisíciletí významnou globální hrozbou. Světová zdravotnická organizace odhaduje počet nových případů na 12 milionů osob ročně, většinou v rozvojových zemích a v zemích vzniklých po rozpadu Sovětského svazu [9]. Trendem v západní Evropě, v USA a v Číně

je růst počtu případů syfilis mezi homosexuálními muži [6, 19, 22, 31, 32]. Primární léze jsou přibližně u 35 % homosexuálních mužů lokalizovány mimo penis, v oblastech hůře přístupných aspekci (rektum, perianální oblast, dutina ústní) a mohou mít atypický neindurativní vzhled [15, 22, 31]. Na druhé straně léze v urogenitální a anogenitální oblasti mohou být také herpetického původu, může je způsobovat myotická nebo bakteriální infekce (erysipel, měkký vřed) nebo trauma [45].

Syfilis odpovídá za 20 % ulcerativních onemocnění genitálu (genital ulcer disease, GUD), přičemž primární syfilitické léze obsahují množství CD₄ T-lymfocytů. Syfilis proto výrazně zvyšuje riziko přenosu viru HIV [34, 39]. Syfilis je přítomna častěji u HIV-pozitivních pacientů se sexuálně přenosným onemocněním (STD), než u HIV-negativních. Koinfekce HIV a syfilis u homosexuálů ve velkých městských oblastech je odhadována na 20 – 70 % [4].

U HIV-pozitivního pacienta může být průběh

syfilis atypický (včetně asymptomatické primární syfilis), HIV-pozitivní pacienti jsou proto častěji zachycováni ve stadiu sekundární syfilis [15]. Sekundární syfilis je u HIV-pozitivních častěji spojena s časnými neurologickými a očními příznaky a obě infekce při vzájemném souběhu také rychleji a agresivněji progredují [4]. Sérologie může být u primární syfilis HIV-pozitivního pacienta negativní, méně často je negativní také u sekundární syfilis [15].

T. pallidum se diseminuje do celého organismu již během úvodních hodin po počátečním kontaktu s mikroorganismem, přednostně se ale množí v bráně vstupu [5]. Ulcerace se obvykle objeví za 3 týdny po přenosu infekce, inkubační doba mezi přenosem infekce a vytvořením vředu může ale kolísat mezi 10–90 dny [18]. V počátcích onemocnění nejsou ještě vytvořeny protilátky. V těchto souvislostech proto v diagnostice syfilis nabývají stále významnější místo metody molekulární biologie.

Uplatnění polymerázové řetězové reakce (PCR) v diagnostice syfilis. Volba diagnostické metody závisí na stadiu syfilis. U primární syfilis, sekundární syfilis a časné kongenitální syfilis jsou k dispozici jak metody přímého průkazu, tak zhruba od 2. týdne onemocnění metody sérologické. U latentní syfilis je metodou volby sérologie, ale uplatnění PCR je možné. Žádná z metod přímého průkazu s výjimkou pokusu na zvířeti (tzv. rabbit infectivity testing - RIT) však nedosahuje citlivosti PCR. Citlivost mikroskopie v zástinu, přímé fluorescence i PCR ovšem závisí na stáří lézí – diagnostika z čerstvých lézí je většinou nadějnější [13, 18, 36, 46]. Mikroskopie v zástinu na rozdíl od PCR navíc špatně odlišuje nepatogenní treponemata, což komplikuje diagnostiku orálních a anogenitálních lézí; metody přímého průkazu selhávají také při odlišení *T. pallidum* subsp. *pertenue* [18, 49].

Nález treponemové DNA nerozlišuje mezi mrtvými a živými mikroorganismy, což se pokládá za limitující pro uplatnění PCR při kontrole léčby. Wicher et al. ovšem zjistili, že v experimentu na králících je chromozomální DNA *T. pallidum* eliminována během 48 hodin. Clearance treponemální DNA tak pravděpodobně závisí na životaschopnosti *T. pallidum* a je rychlejší u mrtvých bakterií. Teplem usmrcený Nicholsův kmen *T. pallidum* vymizí z krve neimunních králíků během 14 dnů, zatímco živý kmen byl prokazatelný u poloviny vzorků pocházejících z neimunních jedinců nejméně dva měsíce. Bylo proto navrženo, aby pozitivita PCR u léčených pacientů dva až tři týdny po léčbě byla hodnocena jako možné terapeutické selhání [47].

Po penicilinové léčbě je klinický relaps vzácný, ale podle sérologických kritérií se při podání jedné dávky 2,4 mil. jednotek penicilinu i.m. objeví relapsy během 6 měsíců u 18 % pacientů [37]. (Je ale nutno poznamenat, že tento léčebný režim se u nás nepoužívá.) Jinak je tomu v případě neléčených pacientů, kde se až u 25 % osob s časnou latentní syfilis objeví rekurentní sekundární manifestace [10, 25]. Sérologické rozlišení relapsu a reinfekce ale není možné [18, 25, 49], kdežto metody molekulární biologie tuto možnost skýtají. Myint et al. publikoval kazuisťiku, kde molekulární analýzou genu *tpoK* u kmene zachyceného z krve při sekundární manifestaci syfilis a jeho srovnáním s kmenem z primárních projevů prokázal relaps syfilis [25].

Výběr klinického materiálu. Pro PCR lze použít rozmanitý klinický materiál (viz tabulka): typicky stěry z ulcerací či jiných kožně-slivničních lézí, nesrážlivou krev, mozkomíšni mok, amniovou tekutinu, exsudáty z ulcerací, punktáty, bioptický materiál i fixované tkáně [2, 3, 11, 20, 21, 29, 34, 38]. PCR prokazatelně předstihuje jiné metody přímého průkazu u vzorků s nízkým obsahem treponemat a u latentní a terciární syfilis [1, 33, 51].

Stěry z ulcerací. Nejvíce zkušeností je zatím s vyšetřováním stěrů z ulcerací a kožně-slivničních projevů primární a sekundární syfilis, kde je PCR již rutinní metodou [30]. Stěr na suchém tampónu lze zmrazit a podrobit vyšetření s mnohatýdenním časovým odstupem, aniž by výrazně klesl obsah DNA *T. pallidum*. Výtěry či exsudát v pufru lze skladovat při pokojové teplotě až dva měsíce. Přesto skladování při pokojové teplotě přináší určité ztráty DNA, a proto se doporučuje stěry uchovávat při nižší teplotě nebo zmrazit [46].

Pravděpodobnost pozitivního záchytu ze stěru však klesá (podobně jako u mikroskopických metod) u hojících se lézí a v případech, kdy je pacient již léčen. V době hojení lézí je ale sérologie už pozitivní u 70 % - 95 % pacientů [46]. Pro zajímavost dodejme, že v experimentu byla treponemální DNA detekována i po 4 měsících v tkáni 10 % králíků s již zhojenými ložisky [47].

Plná krev. Většina autorů uspěla s izolací DNA spíše z plné krve než ze séra nebo plazmy. Studie zabývající se typizací *T. pallidum* konstatovaly, že plná krev v EDTA je materiálem vhodným pro typizační metody podobně jako stěry [21, 40]. Kouznetsov prokázal *T. pallidum* v periferní krvi, kde byly mononukleáry podobně spolehlivým zdrojem DNA jako kožní léze; prokazován byl gen

Tab. 1. Klinický materiál pro PCR detekci *T. pallidum* v jednotlivých fázích syfilis**Table 1.** Clinical specimens for PCR detection of *T. pallidum* at various stages of syphilis

| Stadium | Klinický materiál | Metoda | Literatura |
|----------------------|--|---|---------------------------|
| primární syfilis | stěry, exsudát z léze, biopsie nebo aspirát z lymfatických uzlin, plná krev | mikroskopie v zástinu, PCR, přímá fluorescence (DFA-TP, DFAT-TP), RIT | 1, 20, 29, 34, 35, 46, 47 |
| sekundární syfilis | stěry, exsudát, biopsie nebo aspirát z lymfatických uzlin, plná krev, likvor | mikroskopie v zástinu, PCR, přímá fluorescence (DFA-TP, DFAT-TP), RIT | 14, 16, 17, 20, 25 |
| latentní syfilis | plná krev, biopsie | PCR | 21, 33, 16 |
| terciární syfilis | mozkomíšni mok, tkáň, gumma | PCR | 23, 27, 41, 44 |
| neurosyfilis | mozkomíšni mok, oční mok, gummata CNS | PCR | 27, 38, 41, 44 |
| kongenitální syfilis | mozkomíšni mok, exsudát z lézí, amniová tekutina, plná krev, sérum, tkáň, placenta, pupečník | mikroskopie v zástinu, PCR, přímá fluorescence (DFA-TP, DFAT-TP), RIT | 8, 11, 26, 24, 38, 50 |

PCR = polymerázová řetězová reakce, DFA-TP = přímá imunofluorescence k detekci *T. pallidum* (direct fluorescent-antibody-*T. pallidum*), DFAT-TP = modifikace DFA-TP k detekci *T. pallidum* ve tkáních, RIT = přímý průkaz *T. pallidum* izolací na králíkovi (rabbit infectivity testing)

PCR = polymerase chain reaction, DFA-TP = direct fluorescent antibody-*T. pallidum*, DFAT-TP = direct fluorescent antibody tissue test for *T. pallidum*, RIT = rabbit infectivity testing

pro protein 47-kDa [17]. K dispozici jsou rozdílné údaje o možnosti zachytu *T. pallidum* v krevním oběhu v latentním stadiu onemocnění. Předpokládalo se, že *T. pallidum* lze zachytit v krevním řečišti pouze v primárním a sekundárním stadiu onemocnění [42]. Marfin et al. a další autoři ale DNA *T. pallidum* zachytili v krvi i v latentní fázi syfilis [16, 17, 21, 33].

Sérum. Sérum je pro detekci *T. pallidum* méně vhodné [46]. *T. pallidum* byla prokázána pokusem na zvířeti u 5 z 18 (38 %) vyšetřovaných vzorků plné krve, ale u žádného z odpovídajících sér [43]. Podobného výsledku bylo poté dosaženo i při detekci DNA *T. pallidum* metodou PCR. Z 18 sér od zvířat, u nichž byl zachyt DNA v krvi pozitivní, byla zjištěna pozitivita pouze jednoho séra a ve studii, v níž bylo testováno 15 plných krví pozitivních v PCR, nebylo pozitivní žádné odpovídající sérum, zato všechny krevní koláče DNA *T. pallidum* obsahovaly [46, 47]. Uvádí se, že treponemata jsou lapena v koagulech, takže jejich koncentrace v séru významně klesá [46].

Výjimkou jsou novorozenci s kongenitální syfilis, kde Grimprel et al. detekovali treponemální DNA v sérech 30 % dětí s kongenitální syfilis [11]. Michelow et al. prokázal, že infekci CNS u kongenitální syfilis nejlépe predikuje právě nález DNA *T. pallidum* v séru nebo plné krvi [24]. Vysoký zachyt treponemové DNA ze séra zjistil také Pietravalle et al. [33]. Pozitivní bylo 5 ze 6 sér pacientů v primárním a sekundárním stadiu příjce a 6 z 9 sér u latentní syfilis.

Naše zkušenosti získané vyšetřením 138 krev-

ních sér odebraných od 111 dospělých pacientů svědčí proti použití sér v diagnostice syfilis. Soubor pacientů zahrnoval osoby s podezřením na syfilis a pacienty v primárním, sekundárním, časně latentním a pozdně latentním stadiu. I přes opakované pokusy nebyla chromozomální DNA *T. pallidum* v séru dospělých pacientů detekována. Aby bylo možno vyloučit degradaci DNA nebo eventuální ztráty během purifikace chromozomální DNA, byla k opakovaně negativním sérum přidávána ředěná chromozomální DNA *T. pallidum*. Takto provedené experimenty byly vždy pozitivní a ukázaly relativně malé ztráty chromozomální DNA (cca do 50 %) během její izolace ze séra a následné purifikace. Uvedené výsledky ukazují na skutečnost, že během syfilitického procesu a pravděpodobně i během latentní infekce nejsou v krevním séru přítomny treponemy v detekovatelném množství [7].

Mozkomíšni mok. *T. pallidum* proniká do CNS v různých stadiích infekce [42]. Neuroinvasivita je dána individuálními biologickými vlastnostmi konkrétních infikujících kmenů treponemat. V experimentech na králičích modelech byla zjištěna silná vazba zejména mezi infekcí kmenem *T. pallidum* Sea 81-4 a perzistující pleocytózou [41]. Tato zjištění otevírají perspektivu pro cílenou identifikaci neuroinvasivních kmenů *T. pallidum*. Podle Noordhoekové může DNA usmrčené *T. pallidum* v likvoru dlouhodobě (snad i roky) přetrvávat i po úspěšné léčbě [27]. Při pochybnostech je možno vzít v úvahu, že pro neurosyfilis je vysoce patognomický nález RPR vyšší

než 1:32 v likvoru, a to bez ohledu na dobu trvání infekce nebo HIV status [23]. Mozkomíšní mok je také cenným materiálem pro diagnostiku kongenitální syfilis [7, 24, 38, 48].

Skládování likvoru při 4 °C a opakované rozmrazování nemají vliv na ztráty DNA *T. pallidum*, takže případný negativní výsledek, který je v rozporu s klinickou situací, by měl být přičten nedostatečnému počtu mikroorganismů nebo přítomnosti inhibitorů [44].

Punktát. Pro záchyt *T. pallidum* lze využít také punktované materiály, například punktát z lymfatických uzlin nebo nitrooční tekutinu. Treponemální DNA lze získat také z aspirátů inguinálních uzlin u pacientů se sekundární a dokonce i latentní syfilis [16]. Pro konfirmaci kongenitální syfilis může být odebrána amniotická tekutina [11].

Tkáň. Tradičním způsobem detekce *T. pallidum* v tkáňových řezech je stříbření, ale citlivost této metody ve srovnání s metodami molekulárně-biologickými je jen 41 %. Imunohistochemické postupy jsou citlivější (71 %) a specifitější [12]. PCR je ale výhodnější pro možnost detekovat *T. pallidum* i ve fixovaných řezech. U placentární tkáně je pozitivita PCR signifikantně spojena s histopatologickými změnami placenty a potvrzuje kongenitální syfilis [8]. *T. pallidum* je možno prokázat také z gummat u terciární syfilis, ale citlivost PCR je zde nižší než u předchozích stadií syfilis [51].

Závěr

Jak vyplývá z uvedeného, pro diagnostiku syfilis pomocí PCR se hodí nejrůznější klinický materiál. K diagnostice se hodí především stěry či exsudáty z ulcerací či jiných kožně-slizničních lézí, kde je PCR již dobře ověřena. Použit lze také nesrážlivou krev, mozkomíšní mok, amniotickou tekutinu, punktáty, biotické materiály i fixované tkáně. Pro vyšetřování těchto materiálů v klinické praxi je však nutno získat více zkušeností především s citlivostí PCR v různých stadiích syfilis. Celkově je však PCR citlivější než ostatní metody přímého průkazu především u vzorků s nízkým obsahem treponemat a v případech latentní a terciární syfilis.

Poděkování

Práce byla podpořena grantem IGA MZD NR8967-4.

Seznam zkratk:

PCR = polymerázová řetězová reakce
DFA-TP = přímá imunofluorescence

k detekci *T. pallidum*
(direct fluorescent-antibody-
T. pallidum)

DFAT-TP = modifikace DFA-TP k detekci
T. pallidum ve tkáních

RIT = přímý průkaz *T. pallidum* izolací
na králíkovi (rabbit infectivity
testing)

Literatura

1. **Bruisten, S. M., Cairo, I., Fennema, H., Pijl, A. et al.** Diagnosing genital ulcer disease in a clinic for sexually transmitted diseases in Amsterdam, the Netherlands. *J Clin Microbiol*, 2001, 39, 601–605.
2. **Burstein, J. M., Grimpel, E., Lukehart, S. A., Norgard, M. V. et al.** Sensitive detection of *Treponema pallidum* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, 1991, 29, 62–69.
3. **Centurion-Lara, A., Castro, Ch., Shaffer, J. M., Van Voorhis, W. C. et al.** Detection of *Treponema pallidum* by a sensitive reverse transcriptase PCR. *J Clin Microbiol*, 1997, 35, 1348–1352.
4. **Chan, J.** Syphilis and HIV co-infection: when is lumbar puncture indicated? *Curr HIV Res* 2005, 3, 1, 95–98.
5. **Collart, P., Franceschini, P. and Durel, P.** Experimental rabbit syphilis. *Br J Vener Dis*, 1971, 47, 389–400.
6. **Douglas, J. R., Peterman, T. A., Fenton, K. A.** Syphilis among men who have sex with men: challenges to syphilis elimination in the United States. *Sex Transm Dis*, 2005, 32, 10, S80–83.
7. **Flasarová, M., Šmajš, D., Matějková, P., Woznicová, V. et al.** Molekulární detekce *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* v klinickém materiálu. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2006, 55, 3, 105–111.
8. **Genest, D. R., Choi-Hong, S. R., Tate, J. E., Qureshi, F. et al.** Diagnosis of congenital syphilis from placental examination: comparison of histopathology, Steiner stain, and polymerase chain reaction for *Treponema pallidum* DNA. *Hum Pathol*, 1996, 27, 366–372.
9. **Gerbase, A. C., Rowley, J. T., Heymann, D. H., Berkeley, S. F. et al.** Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs. *Sex Trans Infect* 1998, 74, 12–16.
10. **Gjestland, T.** The Oslo study of untreated syphilis; an epidemiologic investigation of the natural course of the syphilitic infection based upon a re-study of the Boeck-Bruusgaard material. *Acta Derm Venereol (Annex I-LVI)*, 1955, 35, 3–368.
11. **Grimpel, E., Sánchez, P. J., Wendel, G. D., Burstain, J. M. et al.** Use of 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, 1711–1718.
12. **Hoang, M. P., High, W. A., Molberg, K. H.** Secondary syphilis: a histological and immunohistochemical evaluation. *J Cutan Pathol*, 2004, 31, 9, 595–599.
13. **Ito, F., Hunter, E. F., George, R. W., Pope, V. et al.** Specific immunofluorescent staining of pathogenic treponemes with a monoclonal antibody. *J Clin Microbiol*, 1992, 30, 4, 831–838.

14. **Jethwa, H. S., Schmitz, J. L., Dallabetta, G., Behets, F. et al.** Comparison of molecular and microscopic techniques for detection of *Treponema pallidum* in genital ulcers. *J Clin Microbiol*, 1995, 33, 180–183.
15. **Karumudi, U. R., Augenbraun, M.** Syphilis and HIV: a dangerous duo. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2005, 3, 5, 825–831.
16. **Kouznetsov, A. V., Prinz, J. C.** Molecular diagnosis of syphilis: the Schaudinn-Hoffmann lymph-node biopsy. *Lancet*, 2002, 3, 360, 388–389.
17. **Kouznetsov, A. V., Weisenseel, P., Trommler, P., Multahaup, S. et al.** Detection of the 47-kilodalton membrane immunogen gene of *Treponema pallidum* in various tissue sources of patients with syphilis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2005, 51, 2, 143–145.
18. **Larsen, S., Steiner, B., Rudolph, A.** Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev*, 1995, 1, 1–21.
19. **Lin, C.C., Gao, X., Chen, X.S., Chen, Q. et al.** China's Syphilis Epidemic: A systematic review of seroprevalence studies. *Sex Transm Dis*, 2006, 33, 12, 726–736.
20. **Liu, H., Rodes, B., Chen, C.-Y., Steiner, B.** New tests for syphilis: Rational design of PCR method for detection *Treponema pallidum* in clinical specimens using unique regions of the DNA polymerase I gene. *J Clin Microbiol*, 2001, 39, 1941–1946.
21. **Marfin, A. A., Liu, H., Sutton, M. Y., Steiner, B. et al.** Amplification of the DNA polymerase I gene of *Treponema pallidum* from whole blood of person with syphilis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2001, 40, 163–166.
22. **Marcus, U., Bremer, V., Hamouna, O., Kramer, M.H. et al.** Understanding recent increases in the incidence of sexually transmitted infections in men having sex with men: changes in risk behavior from risk avoidance to risk reduction. *Sex Transm Dis*, 2006, 33, 1, 11–17.
23. **Marra, C. M., Maxwell, C. L., Smith, S. L., Lukehart, S. A. et al.** Cerebrospinal fluid abnormalities in patients with syphilis: association with clinical and laboratory features. *J Infect Dis*, 2004, 189, 369–376.
24. **Michelow, I. C., Wendel, G. D. Jr., Norgard, M. V., Zeray, F. et al.** Central nervous system infection in congenital syphilis. *N Engl J Med*, 2002, 346, 1792–1798.
25. **Myint, M., Bashiri, H., Harrington, R. D., Marra, C. M.** Relapse of secondary syphilis after benzathine penicillin G: molecular analysis. *Sex Transm Dis*, 2004, 31, 3, 196–199.
26. **Nathan, L., Bohdan, V. R., Sanchez, P. J., Leos, N. K. et al.** In utero infection with *Treponema pallidum* in early pregnancy. *Prenat Diagn*, 1997, 17, 2, 119–123.
27. **Noordhoek, G. T., Wolters, E. C., de Jonge, M. E., van Embden, J. D.** Detection by polymerase chain reaction of *Treponema pallidum* DNA in cerebrospinal fluid from neurosyphilis patient before and after antibiotic treatment. *J Clin Microbiol*, 1991, 29, 1976–1984.
28. **Norris, S. J.** and *Treponema pallidum* polypeptide research group. Polypeptides of *Treponema pallidum*: Progress toward understanding their structural, functional, and immunologic roles. *Microbiol Rev*, 1993, 750–779.
29. **Orle, K. A., Gates, C. A., Martin D. H., Body B. A. et al.** Simultaneous PCR detection of *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, and herpes simplex virus types 1 and 2 from genital ulcers. *J Clin Microbiol*, 1996, 34, 49–54.
30. **Palmer, H. M., Higgins, S. P., Herring, A. J., Kingston, M. A.** Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom. *Sex Transm Inf*, 2003, 79, 6, 479–483.
31. **Peterman, T. A., Collins, D. E., Aral, S. O.** Responding to the epidemics of syphilis among men who have sex with men: introduction to the special issue. *Sex Transm Dis*, 2005, 32, S1–3.
32. **Peterman, T. A., Heffelfinger, J. D., Swint, E. B., Groseclose, S. L.** The changing epidemiology of syphilis. *Sex Transm Dis*, 2005, 32, S4–10.
33. **Pietravalle, M., Pimpinelli, F., Maini, A., Calpoluongo, E. et al.** Diagnostic relevance of polymerase chain reaction technology for *T. pallidum* in subjects with syphilis in different phase of infection. *New Microbiol*, 1999, 22, 99–104.
34. **Pillay, A., Liu, H., Chen, C. Y., Holloway, B. et al.** Molecular subtyping of *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*. *Sex Transm Dis*, 1998, 25, 408–414.
35. **Pope, V., Fox, K., Liu, H., Marfin, A. A. et al.** Molecular subtyping of *Treponema pallidum* from North and South Carolina. *J Clin Microbiol*, 2005, 43, 8, 3743–3746.
36. **Rodionova, E. N., Gushchin, A. E., Shipulin, G. A., Khludova, N. A. et al.** Detection of *Treponema pallidum* DNA and RNA in clinical material from patients with syphilis at different stages. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*, 2003, 3, 43–50.
37. **Rolfs, R. T., Joesoef, M. R., Hendershot, E. F., Rompalo, A. M. et al.** A randomized trial of enhanced therapy for early syphilis in patients with and without human immunodeficiency virus infection. The Syphilis and HIV Study Group. *N Engl J Med*, 1997, 31, 337, 307–314.
38. **Sánchez, P. J., Wendel, G. D., Grimprel, E., Goldberg, M. et al.** Evaluation of molecular methodologies and rabbit infectivity testing for the diagnosis of congenital syphilis and neonatal central nervous system invasion by *Treponema pallidum*. *J Infect Dis*, 1993, 167, 148–157.
39. **Stamm, W. E., Handsfield, H. H., Rompalo, A. M., Ashley, R. L. et al.** The association between genital ulcer disease and acquisition of HIV infection in homosexual men. *JAMA*, 1988, 260, 1429–1433.
40. **Sutton, M. Y., Liu, H., Steiner, B., Pillay, A. et al.** Molecular subtyping of *Treponema pallidum* in an Arizona County with increasing syphilis morbidity: use of specimens from ulcers and blood. *J Infect Dis*, 2001, 183, 1601–1606.
41. **Tantalo, L. C., Lukehart, S. A., Marra, C. M.** *Treponema pallidum* strain-specific differences in neuroinvasion and clinical phenotype in a rabbit model. *J Infect Dis*, 2005, 191, 75–80.
42. **Tramont, E. C.** Spirochetes: *Treponema pallidum* (Syphilis). In: *Mandell G. L., Bennett J. E., Dolin R., Eds. Principles and practice of infectious diseases*. 5. Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000, 52–94.
43. **Turner, T. B., Hollander D. H.** Biology of the treponematoses. *W. H. O. Monogr*, 1957, 35: 42.
44. **Villanueva, A.V., Podzorski, R. P., Reyes, M. P.** Effects of various handling and storage conditions on stability of *Treponema pallidum* DNA in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol*, 1998, 36, 2117–2119.
45. **Wicher, K., Horowitz, H. W., Wicher, V.** Laboratory methods of diagnosis of syphilis for beginning of the third millennium. *Microbes and Inf*, 1999, 1, 1035–1049.
46. **Wicher, K., Noordhoek, G. T., Abbruscato, F., Wicher, V.** Detection of *Treponema pallidum* in early syphilis by DNA amplification. *J Clin Microbiol*, 1992, 30, 497–500.
47. **Wicher, K., Abbruscato F., Wicher V., Collins D. N. et al.** Identification of persistent infection in experimental syphilis by PCR. *Infect Immun*, 1998, 66, 2509–2513.
48. **Woznicová, V., Šmajš, D., Wechsler, D., Matějková, P. et al.** Detection of *Treponema pallidum* subspecies *palli-*

- dum* from skin lesions, serum, and CSF in an infant with congenital syphilis after clindamycin treatment in pregnancy. *J Clin Microbiol* published ahead of print on 6th December 2006, doi:10.1128/JCM.02209-06
49. **Young, H.** Syphilis: New diagnostic directions. *Int J STD*, 1992, 3, 391–413.
50. **Zákoucká, H., Křemenová, S., Křemen, J.** Problematika vrožené syfilis v posledních dvaceti letech. I. Etiologie, epidemiologie a diagnostika. *Klin mikrobiol inf lék*, 2006, 12, 44–49.
51. **Zoechling, N., Schluepen, E. M., Soyer, H. P., Kerl, H. et al.** Molecular detection of *Treponema pallidum* in secondary and tertiary syphilis. *Br J Dermatol*, 1997, 136, 683–686.

Do redakce došlo 18. 12. 2006

MUDr. Vladana Woznicová, Ph.D.
 Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny
 Pekařská 53
 656 91 Brno
 vladana.woznicova@fnusa.cz

RECENZE

ONDROVČÍK P.: MACELA A., STULÍK J., TREBICHOVSKÝ I., KROČA M., JANOVSKÁ S.: INFEKČNÍ CHOROBY A INTRACELULÁRNÍ PARAZITISMUS BAKTERIÍ. GRADA PUBLISHING, PRAHA 2006, L. VYDÁNÍ, 216 STRAN, ISBN 80-247-0664-4.

Sympaticky vyhlížející příručka je dílem kolektivu zkušených autorů z Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany v Hradci Králové, Ústředního vojenského zdravotního ústavu v Praze a Mikrobiologického ústavu AV ČR tamtéž.

Monografie je zaměřena především na molekulární podstatu parazitických vztahů intracelulárních bakterií k buněčným systémům hostitele a zmapování možností exprese genů s tím souvisejících.

Autoři charakterizují vznik bakteriální infekce jako složitý proces, jehož se účastní molekulární struktury a regulační mechanismy jak bakteriálních, tak hostitelských buněk. Průběh tohoto děje popisují jako řadu postupných kroků. Na jeho začátku stojí přímý kontakt bakteriálních a napadných buněk za účasti adhezivních molekul a receptorových struktur, jejichž charakter a úloha jsou v knize detailně rozebírány. Následná reakce obou zúčastněných stran (zprostředkovaná zde přehledně popisovanými systémy signálů) vyústí v alteraci genové exprese a množení úspěšného patogena v jím preferovaných buňkách a tkáních hostitele. Toto zvýšení počtu mikrobů pak vyvolává aktivaci obranných reakcí, proti nimž se bakterie brání sekrecí efektorových molekul eliminujících účinek hostitelských obranných systémů. Výsledkem je poškození buněk a tkání hostitelského organismu.

Uvedené skutečnosti jsou detailně a srozumitelně probírány zejména v *obecné části* příručky, sestávající ze sedmi kapitol. V nich se autoři zabývají postupně významem koevoluce hostitelů a mikrobů pro jejich vzájemný vztah, úlo-

hou adhezínů a receptorů při jejich vzájemných interakcích, mechanismy aktivního průniku bakterií do cílových buněk, způsoby detekce okolního prostředí bakteriemi, úlohou sekrečních systémů jakožto komunikačních kanálů, významem secernovaných bakteriálních molekul a konečně způsoby, kterými bakterie opouštějí usmrčené nebo vyčerpané hostitelské buňky.

Speciální část monografie je uvedena kapitolou obsahově vycházející z teze, že intracelulární bakterie samy řídí svůj osud v hostitelské buňce. Další šest kapitol této části knihy pak pojednává o vybraných významných zástupcích intracelulárních patogenů, jmenovitě o *Brucella melitensis*, *Francisella tularensis*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, mykobakteriích komplexu *M. tuberculosis* a o *Salmonella enterica*. Uvedené kapitoly mají povětšinou shodné členění, totiž úvod, interakce daného mikroba s hostitelskými buňkami a jejich molekulární aspekty.

Publikace je doplněna deseti názornými obrázkovými schématy a pěti tabulkami. Jednotlivé kapitoly obecně i speciální části jsou zakončeny seznamy citované literatury, na konci příručky nechybí ani rejstřík důležitých pojmů.

Po stránce formální i jazykové je tato práce na dobré úrovni. Drobné výhrady lze možná mít jen k poněkud nejasnému systému vytváření v knize užitých zkratk (str. 8–10), vyšší by mohlo být i zastoupení citací z posledních pěti let. Přes tyto drobnosti lze vyjádřit naději, že se tato zajímavá publikace přiřadí k titulům, jakých není v naší odborné literatuře nikdy dost a nejen studentům, ale i zkušenějším mikrobiologům a odborníkům příbuzných oborů bezesporu přispěje k hlubšímu poznání složitých interakcí vymezené skupiny patogenů, na nichž je postavena schopnost jejich intracelulárního přežívání a množení.

MUDr. Petr Ondrovčík, CSc.