



**LATVIJAS UNIVERSITĀTE
MEDICĪNAS FAKULTĀTE**

**SEROLOĢISKO REAKCIJU VĒRTĒJUMS VĒLĪNA
LATENTA SIFILISA PACIENTIEM**

Promocijas darbs medicīnas zinātņu doktora grāda
iegūšanai mikrobioloģijas, virusoloģijas apakšnozarē

Dzintars Ozoliņš

Rīga, 2009. gads



Promocijas darbs izstrādāts:

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultātē;
Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas
Seksuāli transmisīvo un ādas slimību centrā;
Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskajā centrā.

Promocijas darba vadītāja:

Profesore, Dr. hab. med. **Aija Žileviča**

Promocijas padomes priekšsēdētāja:

Profesore, Dr. hab. med. **Renāte Ligere**

Oficiālie recenzenti:

Profesors, Dr. hab. med. **Alfrēds Miltiņš**
Asoc. profesore, Dr. biol. **Tatjana Tračevska**
Asoc. profesors, Dr. med. **Mario Milco D'Elis**

**Aizstāvēšana notiks 200_ . gada __. _____ pulksten __ Latvijas
Universitātes medicīnas, bioloģijas un farmācijas nozaru promocijas
padomes sēdē Rīgā, Raiņa bulvārī 19, LU Mazajā aulā.**

Pateicības

Liels paldies dēlam Edmundam, sievai Mārītei par sapratni, palīdzību un izturību darba veikšanas laikā.

Paldies darba vadītājai, profesorei Aijai Žilevičai par kompetentu darba vadīšanu.

Paldies par vērtīgajiem padomiem darba recenzēšanas laikā profesoram Alfrēdam Miltiņam, asociētai profesorei Tatjanai Tračevskai, asociētajam profesoram Mario Milco D’Elios.

Īpaši liels paldies cilvēkiem, bez kuru pašaieliedzīga ikdienas darba šis projekts nebūtu īstenojams:

Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Seksuāli transmisīvo un ādas slimību centra valsts sifilisa pacientu reģistra statistiķiem, laboratorijas ārstiem, ārstiem-dermatovenerologiem, laborantiem, sanitāriem;

Ādas un seksuāli transmisīvo klīniskā centra Valdes priekšsēdētājai asociētai profesorei Ilonai Hartmanei, laboratorijas ārstiem, ārstiem-dermatovenerologiem, laborantiem, sanitāriem;

Iekšlietu ministrijas poliklīnikas laboratorijas ārstiem, ārstiem-dermatovenerologiem, laborantiem, sanitāriem.

Paldies profesorei Renātei Ligerei par daudzajiem vērtīgajiem padomiem darba tapšanas laikā.

Paldies arī docentei Līgai Plakanei par nenovērtējamo palīdzību cīņā ar atskaitēm un dokumentiem.

Darbā lietotie saīsinājumi

Saīsinājums	Tā skaidrojums angļiski	Tā skaidrojums latviski
BTIR	Treponema pallidum immobilization reaction	Bālās treponēmas imobilizācijas reakcija
CLIA	Chemiluminescence immunoassay	Hemiluminiscences imunoloģiska analīze
DFA	Direct fluorescent-antibody	Tiešās-fluorescences antivielu
DFA-TP	Direct fluorescent-antibody tissue test for <i>T. pallidum</i>	<i>T. pallidum</i> tiešās fluorescences-antivielu audu tests
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	Etilēndiaminotetraetiķskābe
HEK	Human Embryonic Kidney cell	Cilvēka embrija nieru šūna
ICAM	Inter-Cellular Adhesion Molecule	Inter-celulāra adhēzijas molekula
IFA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay	Imūnfermentatīvā analīze
IFR	Fluorescent treponemal antibody-absorption test	Imūnfluorescences tests
KFT (kardiolipīns)	Cardiolipin complement fixation test	Kardiolipīna komplementa fiksācijas tests
LPS	Lipopolysaccharide	Lipolisaharīdi
MHA-TP	Microhaemagglutination assay for <i>T. pallidum</i>	Treponema pallidum mikrohemaglutinācijas analīze
MMP	Matrix metalloproteinase	Matricas metālproteināze
PCR	Polymerase chain reaction	Polimerāzes ķēdes reakcija
PMN	Polymorphonuclear neutrophil	Polimorfonukleārais neitrofil
RPR	Rapid Plasma Reagin	Ātrā plazmas reagīna tests
SED	Syphilis express diagnosis	Sifilisa ekspresdiagnotika
TLR	Toll-like receptor	Zvan-veida receptors
TNF	Tumor necrosis factor	Tumoru nekrotiskais faktors
TPHA	Treponema pallidum haemagglutination test	Treponema pallidum hemaglutinācijas tests
TPPA	Treponema pallidum Particle Agglutination test	Treponema pallidum daļiņu aglutinācijas tests
VCAM	Vascular cell adhesion molecule	Asinsvadu šūnas adhēzijas molekula
VDRL	Venereal Disease Research Laboratory test	Venērisko slimību pētnieciskās laboratorijas tests
WB	Westernblot	Vesternblots

Anotācija

Netreponemālos testus izmanto sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas novērošanā, bet to diagnostiskā nozīme ir ierobežota, jo vēlīnā sifilisa gadījumā (ilgstošs latentais un terciārais sifiliss) līdz pat 30% slimnieku var nebūt antilipoidālās antivielas. Tādējādi ir aktuāls jautājums par citu laboratoro testu izmantošanu sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanā. Īpaši aktuāls un, varētu arī teikt, neatrisināts šis jautājums ir latentā sifilisa gadījumos, jo šajos stāvokļos klīnicists par slimību spriež, vadoties tikai no seroloģisko reakciju rādītājiem.

Darba mērķis ir izvērtēt seroloģisko testu informativitāti, veicot sifilisa skrīningu, vēlīna latentā sifilisa apstiprinošo diagnostiku un seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanu.

Darba uzdevumi

1. Pašam Rīgas Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskā centra laboratorijā veikt vēlīna latentā sifilisa pacientiem seroloģisko diagnostiku, izmantojot IFA IgG, IgM; SED; TPHA un BTIR testus, un izvērtēt testu ticamību un informativitāti. Šajā pašā laboratorijā pašam veikt ārstētiem vēlīna latentā sifilisa pacientiem sifilisa imunoblota IgG, SED un BTIR testus un izvērtēt šo testu izmantošanas lietderību ārstēšanas efektivitātes monitorēšanā. Sadarbojoties ar Iekšlietu ministrijas poliklīnikas laboratorijas ārstiem, veikt retrospektīvas analīzi par klīniski veselu indivīdu RPR, TPHA vai IFA IgG, IgM testu rezultātiem minētajā poliklīnikā un izvērtēt to efektivitāti vēlīna latentā sifilisa skrīningam. Pašam Rīgas Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskā centra laboratorijā kontrolgrupas pacientiem, kuriem nebija sifiliss, veikt IFA IgG, IgM; SED; TPHA, BTIR un sifilisa imunoblota IgG testus un izvērtēt šo testu specifitātes rādītājus.

2. Izmantojot Rīgas Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskā centra un Iekšlietu ministrijas poliklīnikas pētījumā iesaistīto pacientu ambulatorās kartes, Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Seksuāli transmisīvo un ādas slimību centrā uzturētā valsts sifilisa pacientu datu bāzi, sadalīt iegūto testu rezultātus īsti pozitīvos, īsti negatīvos, viltus pozitīvos un viltus negatīvos.
3. Izteikt sifilisa IFA IgG, IgM testu rezultātus kvantitatīvi, izmantojot šī testa absorbcijas un robežvērtības rādītājus, optimizējot IFA koeficienta izmantošanas iespējas.
4. Aprēķināt Pīrsona korelācijas koeficientus starp IFA IgG, IgM un SED; IFA IgG, IgM un TPHA; SED un BTIR; TpN47 un BTIR, TpN17 un BTIR, TpN15 un BTIR, TmpA un BTIR rādītājiem.
5. Izveidot diagnostikas algoritmu sifilisa skrīningam, latentā sifilisa apstiprinošai diagnostikai un pacientu ārstēšanas efektivitātes vērtēšanas veikšanai.

Rezultāti, secinājumi

SED. Izvērtējot SED rezultātus nespecifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji: jutības rādītāji – 86.8% (īsti pozitīvi rezultāti – 66; viltus negatīvi – 10), reakcijas specifitāte – 81.0% (īsti negatīvie rezultāti – 17; viltus pozitīvie – 4). Cieša korelācija tika konstatēta starp SED un BTIR vērtībām – korelācijas koeficients 0.84 ($p < 0.001$). Vāja korelācija tika konstatēta starp SED un IFA IgG, IgM vērtībām – korelācijas koeficients 0.43 ($p < 0.05$).

TPHA. Izvērtējot TPHA rezultātus specifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji: apkopojošie jutības rādītāji – 97.4% (īsti pozitīvi rezultāti – 38; viltus negatīvi – 1); reakcijas specifitāte – 71.4% (īsti negatīvie rezultāti – 15; viltus

pozitīvie – 6). Tika konstatēta cieša korelācija starp IFA IgG, IgM un TPHA vērtībām – korelācijas koeficients 0.83 ($p < 0.05$).

BTIR. Izvērtējot BTIR rezultātus specifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji: jutības rādītāji – 96.1% (īsti pozitīvi rezultāti – 73; viltus negatīvi – 3); reakcijas specifitāte – 95.2% (īsti negatīvie rezultāti – 20; viltus pozitīvie – 1). Cieša korelācija tika konstatēta starp SED un BTIR vērtībām – korelācijas koeficients 0.84 ($p < 0.001$). Vidēji stipra korelācija (korelācijas koeficients 0.61, $p < 0.001$) bija starp sifilisa imunobolta IgG sintētiskā peptīda TmpA un BTIR vērtībām, starp TpN15 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.59, $p < 0.001$), kā arī TpN47 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.54, $p < 0.001$). Netika konstatēta korelācija starp TpN17 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.20, $p < 0.001$).

Sifilisa IFA IgG, IgM. Izvērtējot IFA IgG, IgM rezultātus specifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji: jutības rādītāji – 97.1% (īsti pozitīvi rezultāti – 33; viltus negatīvi – 1); reakcijas specifitāte – 95.2% (īsti negatīvie rezultāti – 20; viltus pozitīvie – 1). Tika konstatēta cieša korelācija starp IFA IgG, IgM un TPHA vērtībām – korelācijas koeficients 0.83 ($p < 0.05$). Neizteikta korelācija tika konstatēta starp SED un IFA IgG, IgM vērtībām – korelācijas koeficients 0.43 ($p < 0.05$).

Sifilisa imunoblots IgG. Izvērtējot sifilisa imunoblota IgG rezultātus specifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji: reakcijas jutība – 98.1% (īsti pozitīvi rezultāti – 51; viltus negatīvi – 1); reakcijas specifitāte – 100.0% (īsti negatīvie rezultāti – 21; viltus pozitīvie – 0). Vidēji stipra korelācija (korelācijas koeficients 0.61, $p < 0.001$) bija starp sintētiskā peptīda TmpA un BTIR vērtībām, starp TpN15 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.59, $p < 0.001$), kā arī TpN47 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.54, $p < 0.001$). Netika konstatēta korelācija starp TpN17 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.20, $p < 0.001$).

RPR. Izvērtējot RPR rezultātus nespecifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji: reakcijas jutība – 58.8% (īsti pozitīvi rezultāti - 10; viltus negatīvi - 7).

Pietekami augstās jutības dēļ TPHA, IFA IgG, IgM un sifilisa imunoblots IgG ir labi sifilisa skrīninga testi. Neiesakām šīm mērķim izmantot RPR. Diemžēl sifilisa imunoblots IgG pašreiz ir pārāk dārgs.

Labākie vēlīna latentā sifilisa diagnozes apstiprinošie testi ir BTIR un sifilisa imunoblots IgG; šīm mērķim ir iespējams izmantot arī citus treponemālos testus.

SED un BTIR metodes ir izmantojamas, lai spriestu par sifilisa seroloģisko aktivitāti un ārstēšanas efektivitāti. Klīnicisti varētu izmantot IFA IgG, IgM koeficientus, jo to kvantitatīvās vērtības liecina par organisma imunoloģiskās atbildes intensitāti. Saskaņā ar mūsu rezultātiem TmpA, TpN15 un TpN47 kvantitatīvās vērtības var izmantot, lai spriestu par vēlīna latentā sifilisa pacientu ārstēšanas efektivitāti. Iesakām visiem laboratorijas ārstiem un dermatovenerologiem praksē pielietot mūsu izstrādāto diagnostikas algoritmu sifilisa skrīningam, vēlīna latentā sifilisa apstiprinošai diagnostikai un pacientu ārstēšanas efektivitātes vērtēšanas veikšanai.

Abstract

The non-treponemal tests are used for monitoring of serologic activity and treatment of syphilis, but the diagnostics value of non-specific antibodies is limited, because in late syphilis (late latent and tertiary) up to 30% of individuals may lack antilipoidal antibodies. It is essential to find highly sensitive tests in the monitoring of serological activity and efficacy of treatment of latent syphilis.

The aim of the current investigation is to evaluate how informative are serological assays for syphilis screening, the confirmation diagnosis of the late latent syphilis and for monitoring of the serological activity and treatment efficacy.

Tasks for investigation

1. To perform specific assays - ELISA IgG, IgM; TPHA and TPIR, and nonspecific test – SED in the laboratory of the Clinical centre of Skin and Sexually transmitted diseases for late latent syphilis patients included in the study population, and to calculate their sensitivity and specificity. To perform syphilis immunoblot IgG, SED and TPIR assays in the same laboratory for treated late syphilis patients and to evaluate the usefulness of these tests to monitor the efficacy of treatment. In collaboration with laboratory specialists from Outpatient clinic of Ministry of the Interior Clinical Centre to perform retrospective analysis of medical records of clinically healthy persons who were screened for late latent syphilis using RPR, TPHA and ELISA IgG, IgM. To perform ELISA IgG, IgM, SED, TPHA, TPIR and syphilis immunoblot IgG for patients without syphilis of the Clinical centre of Skin and Sexually transmitted diseases (control group) and to evaluate the specificity of these assays.
2. Using medical records of investigated patients in the Clinical centre of Skin and Sexually transmitted diseases and in the Outpatient clinic of Ministry of the Interior Clinical Centre, and the information from Latvian STD patients data base from Centre of Sexually transmitted and Skin diseases of Pauls Stradins clinical university hospital to divide all results into true positive, true negative, false positive and false negative.
3. To evaluate quantitatively the results of ELISA IgG, IgM tests, according to the absorption and borderline parameters.
4. To analyse statistically applying Pearson correlation test the coefficients between ELISA IgG, IgM and SED; ELISA IgG, IgM and TPHA; SED and TPIR; TpN47 and TPIR; TpN15 and TPIR; TmpA and TPIR results.

5. To prepare the diagnostic algorithm for the syphilis screening, the confirmation diagnosis of the latent syphilis and for monitoring of the treatment efficacy.

Results, conclusions

SED. The following data were obtained when we evaluated SED method for detection of nonspecific antibodies: the test sensitivity - 86.8% (true positive results - 66; false negative – 10); specificity - 81.0% (true negative results – 17; false positive – 4). The strong correlation was obtained between SED and TPIR values - correlation coefficient 0.84 ($p < 0.001$). Weak correlation was obtained between values of SED and ELISA IgG, IgM – correlation coefficient 0.43 ($p < 0.05$).

TPHA. The test sensitivity – 97.4% (true positive results - 38; false negative – 1); specificity – 71.4% (true negative results – 15; false positive – 6). The strong correlation was obtained between ELISA IgG, IgM and TPHA values - correlation coefficient 0.83 ($p < 0.05$).

TPIR. The test sensitivity – 96.1% (true positive results – 73; false negative – 3); specificity – 95.2% (true negative results – 20; false positive – 1). The strong correlation was obtained between SED and TPIR values - correlation coefficient 0.84 ($p < 0.001$). Medium strong correlation was obtained between values of synthetic peptide TmpA of immunoblot IgG and TPIR (correlation coefficient 0.61, $p < 0.001$), between values of TpN15 and TPIR (correlation coefficient 0.59, $p < 0.001$), and values of TpN47 and TPIR (correlation coefficient 0.54, $p < 0.001$). There was not observed the correlation between values of TpN17 and TPIR (correlation coefficient 0.20, $p < 0.001$).

Syphilis ELISA IgG, IgM. The following data were obtained when we evaluated SED method for detection of nonspecific antibodies: the test sensitivity - 97.1% (true

positive results - 33; false negative – 1); specificity - 95.2% (true negative results – 20; false positive – 1). The strong correlation was obtained between ELISA IgG, IgM and TPHA values - correlation coefficient 0.83 ($p < 0.05$). Weak correlation was obtained between values of SED and ELISA IgG, IgM - correlation coefficient 0.43 ($p < 0.05$).

Syphilis immunoblot IgG. The test sensitivity – 98.1% (true positive results – 51; false negative – 1); specificity – 100.0% (true negative results – 21; false positive – 0). The medium strong correlation was obtained between values of synthetic peptide TmpA of immunoblot IgG and TPIR (correlation coefficient 0.61, $p < 0.001$), between values of TpN15 and TPIR (correlation coefficient 0.59, $p < 0.001$), and values of TpN47 and TPIR (correlation coefficient 0.54, $p < 0.001$). There was not observed the correlation between values of TpN17 and TPIR (correlation coefficient 0.20, $p < 0.001$).

RPR. The test sensitivity – 58.8% (true positive results - 10; false negative - 7).

SED, TPHA, ELISA IgG, IgM and syphilis immunoblot IgG are useful for the late latent syphilis screening diagnostics. We do not recommend to use RPR for this purpose due insufficient sensitivity. Unfortunately, syphilis immunoblot IgG is very expensive at present.

The most reliable test to confirm syphilis diagnosis is TPIR and syphilis immunoblot IgG, there is possible to use other treponemal assays for this purpose.

SED and TPIR methods are suitable to monitor syphilis serologic activity and treatment efficacy. Clinicians can use coefficient of ELISA IgG, IgM because it shows the intensity of immune response. According to the results of the current work the estimation of values of TmpA, TpN15 and TpN47 might be useful to monitor treatment efficacy of patients with latent syphilis. We suggest to all laboratory doctors

and dermatovenerologists to use our diagnostic algorithm for syphilis screening, the confirmation diagnosis of the late latent syphilis and for monitoring of the treatment efficacy.

Satura rādītājs

1.Ievads.....	15
2.Literatūras apskats.....	18
2.1.Vēsturiskie dati par sifilisa izcelsmi un izplatību.....	18
2.1.1.Slimības izcelsme.....	18
2.1.2.Saslimstība ar sifilisu pēdējos gadu desmitos Eiropā un Latvijā.....	20
2.1.3.Sifilisa epidemioloģiskās uzraudzības sistēma pēdējos gadu desmitos Latvijā un kaimiņvalstīs – Igaunijā un Lietuvā.....	23
2.2.Sifilisa ierosinātājs – <i>Tr. pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i>	25
2.2.1. <i>Tr. pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i> vispārējās īpašības.....	25
2.2.2. <i>Tr. pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i> augšana in vivo un in vitro.....	28
2.2.3. <i>Tr. pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i> virulences faktori.....	29
2.3.Sifilisa attīstības stadijas un patoģenēze.....	33
2.3.1.Sifilisa attīstības stadijas.....	33
2.3.2.Sifilisa patoģenēze.....	34
2.4.Sifilisa laboratoriskā diagnostika.....	36
2.4.1.Sifilisa bakterioskopiskā diagnostika.....	37
2.4.2.Sifilisa seroloģiskā diagnostika.....	40
2.4.2.1.Netreponemālie testi.....	40
2.4.2.2.Treponemālie testi.....	42
2.4.2.3.Situācija ar sifilisa laboratorisko diagnostiku	

Latvijā.....	48
3.Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes.....	53
4.Darba mērķis.....	53
5.Darba uzdevumi.....	54
6.Materiāls un metodes.....	55
6.1.Pētījuma grupas.....	55
6.1.1.Pirmā pētījuma grupa.....	55
6.1.2.Otrā pētījuma grupa.....	55
6.1.3.Trešā pētījuma grupa.....	56
6.1.4.Ceturta pētījuma grupa (kontrolgrupa).....	56
6.2.Izmeklējamie materiāli.....	56
6.3.Izmeklēšanas metodes.....	56
6.3.1.Sifilisa IFA IgG, IgM.....	56
6.3.2.SED.....	57
6.3.3.TPHA.....	58
6.3.4.BTIR.....	58
6.3.5.Sifilisa imunoblots IgG.....	58
6.3.6.RPR.....	59
6.4.Statistiskie aprēķini.....	59
7.Rezultāti.....	60
8.Diskusija.....	73
9.Secinājumi.....	78
10.Diagnostikas algoritms sifilisa skrīningam, latentā sifilisa apstipriņošanai un ārstēšanas efektivitātes vērtēšanai.....	79
10.1.Sifilisa skrīnings.....	79

10.2.Vēlīna latentā sifilisa apstiprinošā diagnostika.....	80
10.3.Vēlīna latentā sifilisa ārstēšanas efektivitātes vērtējums.....	80
10.4.Diagnostikas algoritms sifilisa skrīningam, vēlīna latentā sifilisa apstiprinošai diagnostikai un ārstēšanas efektivitātes vērtēšanai (zīmējums).....	80
11.Darba novitāte.....	81
12.Darba praktiskā nozīme.....	82
13.Publikācijas par pētījuma tēmu.....	82
13.1.Pilni raksti recenzējamās žurnālos.....	82
13.2.Pilni raksti medicīnas periodikā.....	83
14.Ziņojumi par pētījuma tēmu.....	83
14.1.Ziņojumi starptautiskās konferencēs.....	83
14.2.Ziņojumi Latvijā rīkotās konferencēs.....	84
15.Vēres.....	85

1. Ievads

Sifiliss joprojām ir pasaulē plaši izplatīta seksuāli transmisīva slimība. To ierosina spiroheta *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. Slimības sākuma stadijai - primārajam sifilisam ir raksturīgs lokāls audu bojājums spirohetu iekļūšanas vietā. Tā ir nesāpīga čūla jeb cietais šankrs, kurā parasti ir liels daudzums spirohetu. Sekundārajam sifilisam raksturīga ierosinātāja plaša izplatīšanās organismā, un šajā stadijā katrā slimībai raksturīgajā bojājumā ir augsts mikroorganismu saturs. Organismā izstrādāto antivielu dēļ slimība pāriet latentā asimptomātiskā fāzē. Svarīgi atzīmēt, ka neārstēta sifilisa gadījumā bālās treponēmas organismā saglabājas, kaut arī klīniskie simptomi imūnās sistēmas darbības rezultātā ir izzuduši. Pakāpeniski izstrādāto antivielu līmenis krītas, un slimība atkal iegūst klīniskas izpausmes. Aprakstot sifilisu, tiek lietots jēdziens “seroloģiska aktivitāte”, ar to saprotot izstrādāto antivielu pret bālo treponēmu līmeni. Jēdziens “seroloģiskā aktivitāte” attiecināms tikai uz slimību, un tas jānodala no viltus pozitīvām seroloģiskām reakcijām. Viltus pozitīvas reakcijas diemžēl sastopamas bieži. Tās ir reakcijas, kas rodas noteikta iemesla dēļ (krusteniskās reakcijas citas slimības vai stāvokļa, vai tehniskas kļūdas dēļ), attiecīgā testā tiek iegūts pozitīvs rezultāts, kas it kā liecina par sifilisu, bet kuram ar to nav nekāda sakara (Bouis et al., 2001; Farshy, 1985; Haake, 2000; Miltiņš, 1999; Porcella and Schwan, 2001; Smith et al., 2001).

Sifilisam ir raksturīga viļņveidīga gaita. Neārstētai slimībai turpinoties gadiem ilgi, rodas sifilītiska rakstura bojājumi ādā, gļotādā, sirdī, asinsvados, aknās, kuņģa un zarnu traktā, sēkliniekos un to piedēkļos, kaulu un locītavu sistēmā, nierēs, plaušās, centrālajā un perifērajā nervu sistēmā (Miltiņš, 1999).

Saskaņā ar Latvijas Nacionālajām vadlīnijām par “Dzimumorgānu infekciju diagnostiku un ārstēšanu” pēc brīža, kad notikusi inficēšanās, iegūto sifilisu iedala

agrīnā (mazāk par vienu gadu kopš inficēšanās) un vēlīnā sifilisā (vairāk par vienu gadu kopš inficēšanās). Savukārt agrīno sifilisu iedala primārajā, sekundārajā un latentā. Vēlīno sifilisu iedala sekundāri recidivējošajā, terciārajā un latentā (Adijāne et al., 2002). Stadijas noteikšana ir svarīga, jo atšķirīgi ir dažādās stadijās izmantoto diagnostikas metožu jutības un specifitātes rādītāji. Turklāt dažādās stadijās ir atšķirīga ārstēšanas prognoze, tāpēc tas jāņem vērā, novērojot ārstēšanas procesu ar seroloģisko diagnostikas metožu palīdzību (Farshy, 1985; Haake, 2000; Miltiņš, 1999; Smith et al., 2001).

Sifilisa diagnostikā izmanto divas pamata metodes – bakterioskopisko izmeklēšanu (čūlu vai eroziju izdalījumu vai limfmezgla punktāta izmeklēšana natīvā preparātā mikroskopiski tumšā redzes laukā) un seroloģiskās diagnostikas metodes. Tā kā bālā treponēma neaug uz mākslīgām barotnēm, nav iespējams lietot bakterioloģiskās izmeklēšanas metodes. Bakterioskopiski tumšā redzes lauka mikroskopijā treponēmas atrodamas visos agrīna un vēlīna sifilisa bojājumos. Visvairāk treponēmu ir primārā sifilomā (cietā šankrā), reģionālos limfmezglos un sekundārā svaiga sifilisa papulās. Vismazāk to ir vēlīnos sifilīdos. Metode nav izmantojama latentā sifilisa gadījumos. Analīzes jutīgums ir apmēram 80% (Smith et al., 2001). Specifiskums var būt tuvu 100%, bet tikai tad, ja izmeklēšanu veic augsti profesionāls speciālists. Galvenie metodes trūkumi ir, pirmkārt, tas, ka to nevar izmantot visu sifilisa formu gadījumos, un, otrkārt, analīzes ne īpaši augstais jutīgums. Turklāt metodi nav ieteicams lietot, izmeklējot čūlas vai erozijas mutē un ānūsā, jo šajos orgānos ir saprofitiskās treponēmas, kā rezultātā var tikt iegūti viltus pozitīvi analīzes rezultāti (Goh and Voorst Vader, 2001; Miltiņš, 1999; Smith et al., 2001).

Sifilisa seroloģiskās diagnostikas metodes var iedalīt divās grupās : pirmkārt, nespecifiskajos testos (netreponemālie testi), kuros nosaka antivielas pret treponēmu

lipīdiem, un, otrkārt, specifiskajos testos (treponemālie testi), ar kuru palīdzību konstatē specifiskās antivielas pret treponēmu proteīniem. Nespecifiskajos testos par antigēnu izmanto kardiolipīna antigēnu, ko iegūst no vērša sirds muskuļa, un tātad ar šo metodi nosaka nespecifiskās antivielas. Nespecifiskie testi pēc mehānisma ir flokulācijas testi, kur izveidojies komplekss “antigēns + antiViela” veido redzamas pārslas. No nespecifiskajiem testiem Latvijā visbiežāk lieto: SED (Syphilis express diagnosis), RPR (*Rapid Plasma Reagin*), VDRL (*Veneral Disease Research Laboratory*) reakciju.

Netreponemālos testus veiksmīgi izmanto divos nolūkos – pirmkārt, par caurskates (skrīninga) testiem sifilisa diagnostikā. Tūlīt gan jāatzīmē, ka šie testi ir tikai orientējoši un neder diagnozes apstiprināšanai. Pozitīva rezultāta gadījumā tie jāapstiprina ar specifiskajiem testiem. Otrkārt, saskaņā ar Eiropas vadlīnijām netreponemālos testus izmanto sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas novērošanā (Goh, and Voorst Vader, 2001).

Ar specifiskajiem testiem serumā un/vai plazmā konstatē antivielas, kas veidojas pret *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* specifiskiem antigēniem. Komerčiāli pieejamās testsistēmās izmanto Nikolsa celma TpN15, TpN17 un TpN47 rekombinantos antigēnus. Ir arī dati par citu rekombinanto antigēnu Tp0453, Tp92, Gpd izmantošanu (Wesley et al., 2003), bet šāda veida testsistēmas vēl nav komerciāli pieejamas. Latvijā no treponemāliem testiem izmanto TPHA (*Treponema pallidum hemagglutination test*), imūnfermentatīvo analīzi IFA (*Enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA*) un imūnfluorescences testu IFR (*Fluorescent treponemal antibody-absorption test – FTA-ABS*). Visus minētos specifiskos treponemālos testus lieto sifilisa diagnozes apstiprināšanai un arī diferenciāldiagnostikā (Farshy, 1985; Goh and Voorst Vader, 2001; Miltiņš, 1999; Smith et al., 2001).

Vēsturiski par sifilisa izārstēšanas apstiprinošiem laboratorajiem testiem bez netreponemālajiem tika izmantota specifiskie testi - komplementa saistīšanas (Vasermana) reakcija un bālās treponēmas imobilizācijas reakcija (BTIR) jeb Nelsona tests, tie abi ir treponemālie testi. Dažādu iemeslu dēļ ikdienas laboratorajā praksē šos testus vairs neizmanto. Rīgā BTIR testu izmanto tikai atsevišķās specializētās laboratorijās.

Lai gan nespecifisko antivielu noteikšana sifilisa diagnostikā tiek plaši lietota, to diagnostiskā nozīme ir ierobežota: pirmkārt, agrīnā primārajā slimības fāzē antilipoidālās antivielas var neattīstīties, un, otrkārt, vēlīnā sifilisa gadījumā (ilgstošs latentais un terciārais sifiliss) līdz pat 30% slimnieku var vairs nebūt antilipoidālās antivielas (Wesley et al., 2003). Netreponemālie testi ir ļoti jutīgi sekundārā sifilisa gadījumos, bet pārējo sifilisa formu gadījumos to jutība ir nepietiekama (sk. 1. tabulu) (Patrick et al., 1998). Tādējādi ir aktuāls jautājums par citu laboratoro testu izmantošanu sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanā. Īpaši aktuāls un, varētu arī teikt, neatrisināts šis jautājums ir latentā sifilisa gadījumos, jo šajos stāvokļos klīnicists par slimību spriež, vadoties tikai no seroloģisko reakciju rādītājiem.

Līdz ar to var secināt, ka sifilisa seroloģiskā diagnostika nav izstrādāta optimālā līmenī, un tā ir jāuzlabo.

2. Literatūras apskats

2.1. Vēsturiskie dati par sifilisa izcelsmi un izplatību

2.1.1. Slimības izcelsme

Izmeklējot DNS un lietojot imunoloģiskās metodes cilvēka kaulu testēšanā, ar augstu ticamības pakāpi var apgalvot, ka oriģinālā treponemālā slimība radās Austrumāfrikā, pēc tam izplatījās Āzijā, Ziemeļamerikā un Eiropā. Apmēram pirms 8000 gadiem

notika mikroorganisma mutācija un radās *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, kas ir sifilisa ierosinātājs (Routhschild, 2005). Sifilisa raksturīgie kaulu bojājumi nav konstatēti pirms Kolumba ēras Eiropā, Āfrikā un Āzijā (Anderson et al., 1986, Berato et al., 1995, Rothschild B.M. un Rothschild C., 1996, Dean et al., 1985). Savukārt, minētās atradnes ir konstatētas vairākās vietās Ziemeļamerikā un kaulu vecums tiek datēts, sākot ar 8000 gadiem – un proti, Vindoverā Floridas štatā, Frontenas salā Ņujorkas štatā, Libenā Ohajjo štatā un Amaknakā Aļaskas štatā (Rothschild et al., 1995, Rothschild B.M. un Rothschild C., 1996).

Literatūrā ticami tiek aprakstīta pirmā sifilisa epidēmija Eiropā 1494.gadā, kad sifiliss tiek konstatēts Neapolē. Pirms Kristofera Kolumba brauciena uz Amerikas kontinentu 1492.gadā Eiropā nav īsti ticamu vēsturisku datu par sifilisu (Fenton et al., 2008). Kolumba jūrnieki bija izsēdušies krastā Dominikas Republikā, un šajās salās ir atrasti ļoti seni ar sifilisu slimu cilvēku kauli (Routhschild, 2005).

Līdz ar to ir trīs galvenās teorijas par sifilisa izcelsmi:

1) Treponēmas jau izsenis ir bijušas Eiropā vēl pirms Kolumba jūras brauciena, tātad jau agrāk par 1492.gadu treponēmā notika mutācija, un tā pārveidojās par sifilisa ierosinātāju. Sifilisu izplatīja Kolumba jūrnieki no Eiropas uz Ziemeļameriku. 2) Bālās treponēmas izcelsme meklējama Āfrikā, kur vēl šodien plaši izplatītas citas, sifilisa ierosinātājas radniecīgas treponēmas. 3) Tomēr par vadošo un visvairāk ticamo hipotēzi uzskata trešo variantu, kas pretējs pirmajai hipotēzei, un proti, ka sifiliss ir Amerikas indiāņu slimība un Kolumba jūrnieki to pārnesa no Ziemeļamerikas uz Eiropu (Routhschild, 2005). Atbilstoši šai teorijai tiek uzskatīts, ka sifiliss tika nodots no Amerikas pamatiedzīvotājiem Kolumba jūrniekiem un, tādējādi, vēlāk tas izplatījās Spānijā un citur Eiropā. Sifilisa izplatība Eiropā, sākot no 16.gadsimta, bija strauja un slimībai šajos vēsturiskajos laikos ir bijusi arī augsta mirstība. Slimība

izplatījās arī Indijā, Ķīnā un Japānā. Interesants ir fakts, ka neviena no tautām nevēlas atzīt sifilisa izcelsmi saistībā ar pašu mājām: itāļi sauc to par spāņu vai franču slimību; franči sauc par itāļu vai neopolitāņu slimību; angļi sauc to par franču slimību; krievi sauc to par poļu slimību; un pirmie spāņi, kas aprakstīja slimības izpausmes, sauc to par Hispaniola, kas tulkojot nozīmē - Haiti slimība (Fenton et al., 2008).

2.1.2. Saslimstība ar sifilisu pēdējos gadu desmitos Eiropā un Latvijā

Vēsturiski sifiliss vienmēr ir izraisījis pastiprinātu sabiedrības uzmanību nopietno sekū dēļ, ja šī slimība netiek savlaicīgi diagnosticēta un ārstēta. Neārstēts sifiliss izraisa nopietnas neiroloģiskas un vaskulāras komplikācijas, nereti pat ar letālām sekām. Saslimstības līmenis ir atkarīgs no sabiedrības sociāliem, ekonomiskiem, psiholoģiskiem faktoriem, kā arī no vairākiem apstākļiem, kas ir tieši saistīti ar veselības aprūpes sistēmu – te jāmin slimības diagnostika, monitorēšana, ārstēšana un epidemioloģiskā uzraudzība un kontrole.

1941./1942. klīniskajā praksē tika ieviesta pirmā antibiotika – penicilīns, un līdz ar to pasaules attīstītajās valstīs saslimstība ar sifilisu pastāvīgi mazinājās.

Jāuzsver, ka saslimstība ar sifilisu, kā likums, pieaug dažu gadu laikā pēc kariem, revolūcijām un dabas katastrofām. Tā, piemēram, Latvijā saslimstība ievērojami pieauga 1922. gadā (319 gadījumi uz 100 000 iedzīvotājiem), 1946.gadā (216/100 000), 1973.gadā (82.5/100 000) un 1997.gadā (121.3/100 000) (Miltiņš, 1999). Minēto periodu starplaikos saslimstība bija ievērojami zemāka. Galvenie iemesli, kāpēc pieauga saslimstība 1922.gadā, bija Pirmā pasaules kara un revolūciju sekas, kā rezultātā pieauga migrācija un prostitūcija. Arī 1946.gadā Otrā pasaules kara sekū dēļ bija vērojams saslimstības pieaugums, salīdzinot ar dažiem turpmākiem gadiem,. Bet saslimstība bija zemāka, salīdzinot ar 1922.gadu, jo ārstēšanā sāka izmantot penicilīnu. 20. gadsimta 70.gadu sākumā Latvijā atkal ievērojami pieauga saslimstība

ar sifilisu (1973. gadā 82.5/100 000, salīdzinoši 1952. – 1968. gadā vidēji 6.6/100 000 (Miltiņš, 1999)). Iemesls, kāpēc pieauga saslimstība Latvijā 1973.gadā, bija viesstrādnieku, kas likvidēja vājgāzu sekas, ieplūšana toreizējā Latvijas PSR. Savukārt saslimstības līmeņa pieauguma 1997.gadā iemesls bija krasi sociālo un ekonomisko pārmaiņu 90.gadu sākumā, pārejot uz tirgus ekonomiku, sekas. Saslimstība ar sifilisu Latvijā bija relatīvi zema ekonomiskās un sociālās stabilitātes periodos: 1952. – 1968. gadā vidēji 6.6/100 000, 1976. – 1989. gadā vidēji 9.7/100 000 (Miltiņš, 1999).

Kopš 1990.gada Eiropas valstīs, it īpaši Austrumeiropā, ir pieaugusi saslimstība gan ar iegūto, gan arī iedzimto sifilisu. Jāatzīmē gan, ka saslimstība ir pieaugusi visā pasaulē, un šo fenomenu saista ar urbanizēto aglomerātu un seksa tūrisma industrijas attīstību [Woznicova and Valisova, 2007]. Kopš 2000.gada ir pieaugusi saslimstība Amerikas Savienotajās Valstīs, it īpaši starp vīriešiem homoseksuālistiem (Centers for Disease Control and Prevention, 2003, 2001, 2002, 1999, 2004). Līdzīgs saslimstības pieaugums pēdējos gados starp homoseksuāliem vīriešiem vērojams arī Rietumeiropā un Lielbritānijā (Giuliani et al., 2005, Hopkins et al., 2004, Lautenschlager, 2005, Simms et al., 2005, Van der Bij et al., 2005).

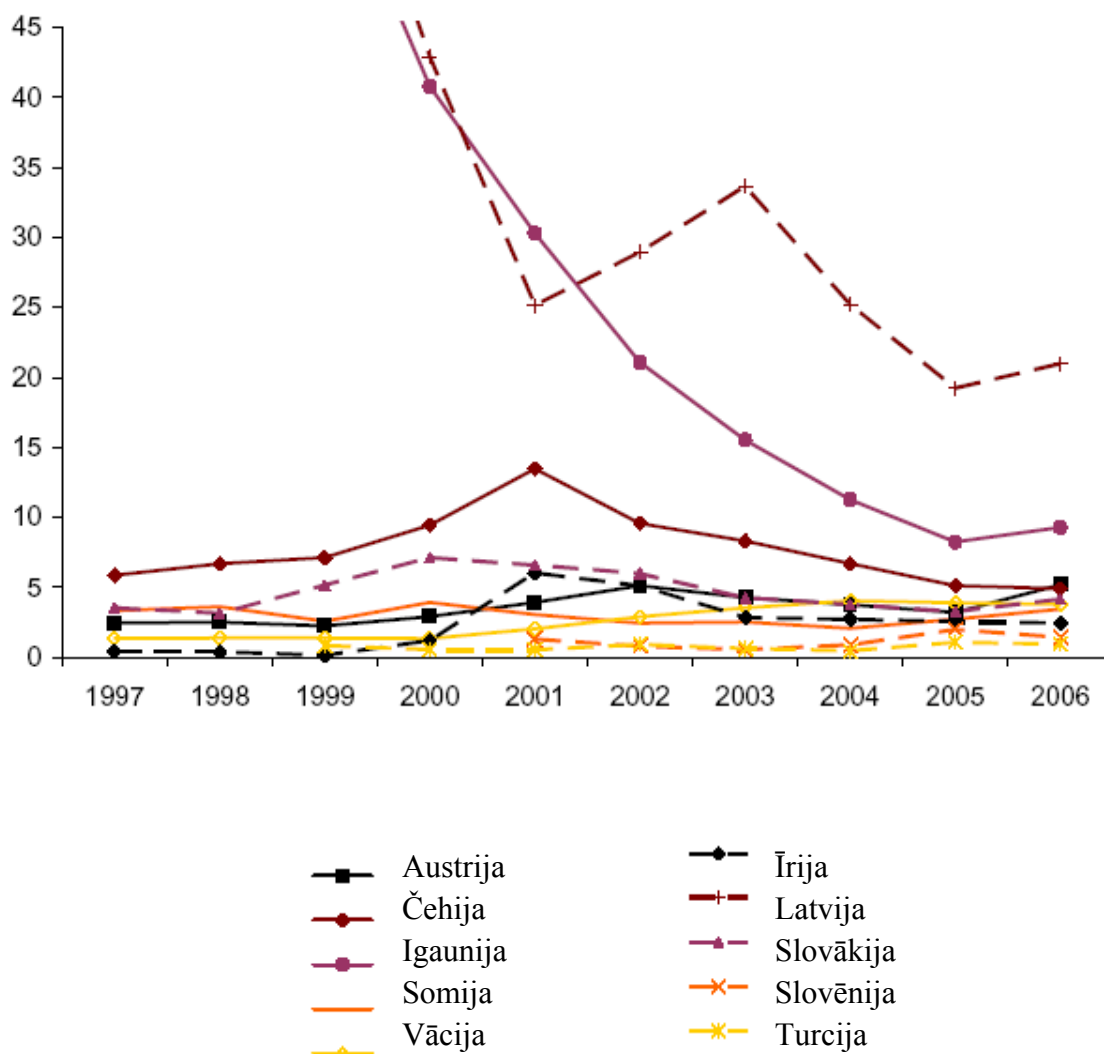
Bez iegūtā sifilisa ievērojami pieaudzis arī iedzimtā sifilisa gadījumu skaits. Iedzimtais sifiliss īpaši aktuāls ir jaunattīstības valstīs, jo šajos pasaules reģionos parasti prenatālā testēšana un inficēto grūtnieču ārstēšana ar antibiotikām netiek veikta, kā rezultātā auglis iegūst iedzimtu sifilisu. Iedzimta sifilisa sekas ir spontāni aborti, jaundzimušā nāve vai arī slimības izpausmes zīdāinim. Atsevišķās valstīs iedzimtā sifilisa prevalence ir ļoti augsta. Tā, saskaņā ar Tanzānijā veikta pētījuma rezultātiem līdz pat 50% no nedzīvi dzimušajiem bērniem ir bijuši inficēti ar sifilisu (Watson-Jones et al., 2002).

Tāpat visā pasaulē pēdējos gados vērojams sifilisa saslimstības pieaugums. Šis jautājums ir aktuāls ne tikai pats par sevi, bet gan arī tāpēc, ka ir dati, kas liecina, ka sifilisa slimniekiem būtiski pieaug inficēšanās risks ar HIV (Greenblatt et al., 1988, Stamm et al., 1988).

Pēdējās dekādes dati par saslimstību ar sifilisu Latvijā ir sekojoši. 1997.gadā saslimstība ar sifilisu Latvijā bija dramatiski augsta - 121.3/100 000, tad tā pakāpeniski ir mazinājusies (2001.-2005.gadā tā vidēji bija 31/100 000) (Anonīms, 2006). Tomēr vēl arvien saslimstība ar sifilisu Latvijā ir vērtējama kā augsta, salīdzinot ne tikai ar augsti attīstītām valstīm, kā ASV (2.7/100 000 2004.gadā) (Workowski and Berman, 2004), bet arī ar daudzām Austrumeiropas valstīm. Piemēram, saslimstība ar sifilisu Čehijas Republikā 2002.gadā bija 9.5/100 000 (Zobkoucko et al., 2004), Baltkrievijā 2004.gadā tā bija 41/100 000 (Pankratov et al., 2006)) u.t.t. Salīdzinoši dati par saslimstību Eiropā ir parādīti 1. zīmējumā.

Sifilisa (visas stadijas) saslimšanas gadījumu skaits uz 100 000 iedzīvotāju Eiropā:

1997. - 2006.gads (Cole et al., 2007)



2.1.3. Sifilisa epidemioloģiskās uzraudzības sistēmas attīstība pēdējos gadu desmitos Latvijā un kaimiņvalstīs – Igaunijā un Lietuvā

Tā kā 20. gadsimta 70.gadu sākumā Latvijā ievērojami pieauga saslimstība ar sifilisu, toreizējās Latvijas PSR atbildīgās amatpersonas izveidoja vienotu seksuāli transmisīvo slimību diagnostikas un kontroles sistēmu valstī. Tika izveidoti divi veneroloģiskie dispanseri, kas nedaudz vēlāk tika pārdēvēti par Ādas un seksuāli transmisīvo slimību klīnisko centru A.Briāna ielā 2, Rīgā un Seksuāli transmisīvo un

ādas slimību centru Pērnavas ielā 70, Rīgā. Ādas un seksuāli transmisīvo slimību klīniskajā centrā tika veikta seksuāli transmisīvo slimību apstiprinošā diagnostika Rīgas iedzīvotājiem, savukārt, Seksuāli transmisīvo un ādas slimību centrā – pārējiem republikas iedzīvotājiem. Tika izveidots vienots seksuāli transmisīvo slimnieku reģistrs un attiecībā uz šiem pacientiem īstenoja stingru epidemioloģisku uzraudzību, nepieciešamības gadījumā piemērojot pat piespiedu ārstēšanas pasākumus. Organizatoriskais darbs vainagojās ar panākumiem - saslimstības līmenis Latvijā būtiski mazinājās - 1976. – 1989. gadā vidēji 9.7/100 000 (Miltiņš, 1999).

Sākot no 90. gadiem, dažādu iemeslu dēļ vienotā seksuāli transmisīvo slimnieku uzraudzības sistēmu pakāpeniski kļuva vājāka. Uz doto brīdi abi specializētie centri turpina savu darbu, bet Latvijā nav oficiāla šo slimību references centra. Savukārt epidemioloģiskās uzraudzības funkcijas veic Sabiedrības Veselības Aģentūra. Epidemioloģiskā informācija ir atdalīta no pilnīgas klīniskās un laboratoriskās informācijas, nav arī pilnvērtīgas pacientu datu bāzes un centralizētas laboratoriskās diagnostikas sistēmas. Tāpēc viena no galvenajām problēmām ir tā, ka nereti ir ļoti grūti vai pat neiespējami diferencēt svaigus saslimšanas gadījumus no jau sen izārstētajiem. Tas apliecina, ka ir jāizveido references centrs, kas veidotu un kontrolētu centralizēto diagnostikas sistēmu, uzturētu pacientu datu bāzi un īstenotu labu sadarbību ar epidemioloģiskās uzraudzības dienestu - Sabiedrības Veselības Aģentūru.

Līdzīgas izmaiņas ir notikušas arī kaimiņvalstīs – Igaunijā un Lietuvā. Sākot no 90.gadu sākuma, Igaunijas laboratorijās līdzīgi kā Latvijā samazinājās valsts medicīnas laboratoriju skaits, pieauga privāto laboratoriju nozīme. Šīs izmaiņas notika visai strauji un nereti arī visai nepārdomāti, kā rezultātā dažādu metožu izmantošana dažādās laboratorijās ir stipri atšķirīga. Arī Igaunijā uz doto brīdi nav references

laboratorijas seksuāli transmisīvo slimību diagnostikā, kas tiek uzskatīts par būtisku esošās medicīniskās aprūpes sistēmas trūkumu (Naaber et al., 2005).

Lietuvā 90. gadu sākumā valsts-kontrolēto obligāto ārstēšanas sistēmu nomainīja daudz decentralizētāka sistēma, kas tika balstīta uz ambulatoro pacientu aprūpi. Izveidojās daudzas jaunas privātas ambulatorās aprūpes iestādes un laboratorijas, kurās tika realizēta anonīma pacientu diagnostika un ārstēšana. Agrāk - padomju gados, par visām diagnosticētajām seksuāli transmisīvajām slimībām bija jāziņo uz centrālo dispanseru. Tagad, līdzīgi kā Latvijā, par šiem gadījumiem vispirms ir jāziņo jaunizveidotajiem reģionālajiem sabiedrības veselības centriem, kas savukārt ziņo Nacionālajam Infekciju Profilakses un kontroles centram. Arī Lietuvā pašreiz nav references centra seksuāli transmisīvo slimību diagnostikā un tas ir jāizveido (Vagoras et al., 2006).

2.2. Sifilisa ierosinātājs – *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*

2.2.1. *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* vispārējās īpašības

Mikroorganismu atklāja vācu zinātnieki Hofmans un Šaudins 1905.gadā. *T. pallidum* subsp. *pallidum* pieder spirāliska veida mikroorganismu rindai *Spirochaetales*, un tās vieta taksonomijas sistēmā ir šāda:

Domēns:	Bacteria
Valsts:	Procaryotae
Nodaļa:	Spirochaetes
Klase:	Spirochaetes
Rinda:	Spirochaetales
Dzimta:	Spirochaetaceae
Ģints:	Treponema

Šajā dzimtā ir arī citas radniecīgas treponēmas, kas izraisa nevenereālas saslimšanas cilvēkiem Tās ir *T. pallidum* subsp. *endemicum*, *T. pallidum* subsp. *pertenue* un *T. carateum*, kuras var diferencēt no *T. pallidum* subsp. *pallidum*, izmantojot laboratoriskās diagnostikas metodes. Radniecīgas treponēmas ierosina arī trušu slimības (1. tabula).

1.tabula

Ģints *Treponema* patogēno pārstāvju raksturojums (Norris et al., 2001)

Ierosinātājs	Slimība	Izplatība	Klimats	Patogenitāte cilvēkam	Patogenitāte dzīvniekiem
<i>T. pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i>	Sifiliss	Pa visu pasauli	Mērens	Stipri infekciozs. Lokāla un vispārēja infekcija; agrīnas, latentas, vēlīnas un iedzimtas formas	Truši - ļoti jutīgi attiecībā uz inficēšanos caur ādu un sēkliniekiem. Kāmji - limfmezglu bojājums, bet nav izpausmju uz ādas. Jūras cūciņas - relatīvi rezistentas. Visi minētie dzīvnieki var inficēties.
<i>T. pallidum</i> subsp. <i>endemicum</i>	Endēmisks sifiliss	Ziemeļāfrika; Tuvie Austrumi; Dienvideiropa	Tuksnešu un mērens	Vidēji infekciozs. Agrīnas, latentas un vēlīnas stadijas	Truši, kāmji un jūras cūciņas ir jutīgi uz infekciju.
<i>T. pallidum</i> subsp. <i>pertenue</i>	Frambēzija	Centrālā Āfrika; Dienvidamerika; Indonēzija	Tropisks un tuksnešu	Vidēji infekciozs. Ādas un kaulu bojājumi. Iedzimta slimība ir reta.	Kāmjiem ir raksturīgi hroniski ādas bojājumi. Truši un jūras cūciņas arī ir jutīgi.
<i>Treponema carateum</i>	Pinta	Centrālā Amerika un Dienvidamerika	Tropisks	Nav invazīva. Lokāli ādas bojājumi, nav sistēmisku izpausmju.	Nav infekcioza laboratorijas dzīvniekiem.
<i>Treponema paraluisuniculi</i>	Trušu venerāla spirohetoze	Nav zināms	Nav zināms	Nav infekciozs cilvēkam	Trušu ģenitāliju bojājums

Kā redzams no tabulas datiem, treponēmas atšķiras gan pēc morfoloģiskām, gan fizioloģiskām īpašībām. Bez tam, ir atšķirības šo mikroorganismu ģenētiskajā struktūrā (Centurion-Lara et al., 1998).

T. pallidum subsp. *pallidum* garums ir no 6 līdz 15 μm, diametrs 0,2 μm. Šūnas sienas struktūra ir kā gramnegatīvai baktērijai.. Apvalku veido citoplazmatiskā membrāna, kas ir cieši saistīta ar ārpusē esošo ārējo membrānu. Starp šīm membrānām ir plāns peptidoglikānu slānis, kas nodrošina strukturālo stabilitāti. Ārējā

membrāna ir īpatnēja. Tā ir līdzīga gramnegatīvo baktēriju ārējai membrānai, bet tajā ir maz olbaltumvielu – porīnu un tā nesatur lipopolisaharīdu (LPS) slāni (Fraser et al, 1998). LPS ir endotoksīns, kas izraisa drudzi un iekaisumu. Pašreiz nav zināms, ka *T. pallidum* subsp. *pallidum* genoms kodētu proteīnu, kas ir homologi poras veidojošajiem, sintēzi, un tāpēc nav saprotams, kādā veidā barības vielas šķērso ārējo membrānu, lai iekļūtu periplazmatiskajā telpā. Nesen publicētā pētījumā (Hazlett et al., 2005) tiek izteikta doma, ka ārējās membrānas proteīns Tpr0453 varētu pildīt šo funkciju un paaugstināt ārējās membrānas caurlaidību, sekmējot neselektīvu barības vielu difūziju periplazmā.

Mikroorganismam raksturīgās korķveida kustības nodrošina endoflagellas, kas novietotas periplazmatiskajā spraugā (Jepsen et al., 1968).

T. pallidum subsp. *pallidum* genoms ir labi izpētīts. Tā struktūra tika noteikta Genoma Secības Pētījuma Projekta ietvaros. *T. pallidum* genoma gēnu dzimta Tpr dalās 12 grupās. Trīs no tām – TprF, TprI un TprK kodē ārējās membrānas proteīnus. Šiem gēniem ir daudz allēļu, ar ko izskaidrojama *T. pallidum* ģenētiskā daudzveidība. Genoms ir visai mazs – 1.14 Mb un tas kodē 1 041 proteīnu sintēzi (Fraser et al., 1998). Tikai dažām baktērijām ir mazāks genoms par *T. pallidum* subsp. *pallidum* genomu. Lielākajai daļai konvenciālo gramnegatīvo (piem., *Escherichia coli*, 4.6 Mb) un grampozitīvo (piem., *Bacillus subtilis*, 4.2 Mb) mikroorganismu tas ir pat vairākas reizes lielāks. Genoma Secības Pētījuma Projekta ietvaros tika gūts apstiprinājums tam, ko pirms tam tikai prognozēja – proti, *T. pallidum* subsp. *pallidum* ir mikroorganisms ar ļoti ierobežotu metabolisko aktivitāti

Enerģijas ieguvei organisms izmanto anaerobo glikolīzi (Fraser et al., 1998, Nichols, J. C., and Baseman, J. B., 1975, Schiller, N. L., and Cox, C. D., 1977). Lai gan kādreiz izskanēja doma par tā fakultatīvi anaerobo dabu, tagad ir pierādīts, ka tam

nav trikarbonskābju cikla fermentu un nav elektronu transporta ķēdes (Fraser et al., 1998).

Īpatnējs moments ir tas, ka *T. pallidum* subsp. *pallidum* netiek veikta aminoskābju un taukskābju sintēze (Fraser et al., 1998), bet tai ir fermenti, kas nosaka aminoskābju un taukskābju savstarpēju konversiju. Ir izteikta doma, ka *T. pallidum* subsp. *pallidum* izmanto svarīgākās saimnieka organisma makromolekulas, iesaistot tās konversijas bioķīmiskajos ciklos. Bez tam mikroorganisms izmanto arī saimnieka specifiskos transportproteīnus (Fraser et al., 1998). Šie proteīni ir līdzīgi vairākām baktērijām, tā, piemēram, lipoproteīns TpN32 ir homologs nesēn atklātajam *E. coli* metionīnu saistošajam transportproteīnam. Arī TpN32 piemīt metionīnu saistošās īpašības (Deka et al., 2004). Tātad, *T. pallidum* subsp. *pallidum* ir īstens parazīts, kas izmanto anaerobo metabolismu.

2.2.2. *T. pallidum* subsp. *pallidum* augšana in vivo un in vitro

Lai gan *T. pallidum* izpēte ilgst jau vairāk kā 100 gadus, nevienam no pētniekiem nav izdevies panākt organisma vairošanos audu kultūrās vai mākslīgās barotnēs (Fieldsteel et al, 1981, Fieldsteel et al, 1982, Norris, 1982). Šis apstāklis, acīmredzot, ir lielākais mikroorganisma bioloģiskās dabas izpētes šķērslis. Var vienīgi secināt, ka mikroorganismam piemīt oriģinālas anabolisma izpausmes.

Cilvēks ir vienīgais zināmais mikroorganisma dabīgais saimnieks. Bioloģiskie testi dzīvniekos nav devuši pozitīvus rezultātus, tomēr viens modelis eksistē mikroorganismu audzē trušu tēviņu sēkliniekos. Tas tiek darīts eksperimentāliem mērķiem, lai savairotu mikroorganismus un izmantotu tos vairāku laboratoro testu veikšanai.

T. pallidum subsp. *pallidum* vairošanās cikls ir lēns. Mikroorganisms in vivo dubultojas katras 30 līdz 33 stundas (Cumberland, and Turner, 1949, Magnuson et al.,

1948). Kā jau minēts, *T. pallidum* subsp. *pallidum* ATF sintēzei izmanto anaerobo glikolīzi. Organismi, kuros ATF tiek sintezēta aerobo bioķīmisko ciklu rezultātā, kā, piemēram, *E. coli*, no vienas glikozes molekulas iegūst 38 ATF molekulas, savukārt, viena anaerobās glikolīzes cikla rezultātā veidojas tikai 2 ATF molekulas, tātad šo ciklu produktivitāte atšķiras 19 reizes. *E. coli* dubultojas apmēram katrās 20 minūtēs, kas ir vismaz 90 reizes ātrāk par *T. pallidum* subsp. *pallidum* vairošanās ātrumu. Šis fenomens tiek skaidrots dažādi - piemēram, ar *T. pallidum* subsp. *pallidum* pazemināto jutību pret skābekli. Mikroorganismam ir identificēti vairāki fermenti, kas to aizsargā pret skābekļa ietekmi, kā piemēram, neelaredoksīns (Hazlett et al., 2002). Bez tam mikroorganisms ir visai nenoturīgs pret paaugstinātu temperatūru. Vismaz viens *T. pallidum* subsp. *pallidum* ferments ir nestabils jau normālas cilvēka ķermeņa temperatūras apstākļos (Benoit et al., 2001). Iespējams, ka arī šim apstāklim ir nozīme, kāpēc mikroorganisma vairošanās cikls ir tik lēns.

Neskatoties uz daudzkārtējiem mēģinājumiem, vēl arvien nav izdevies izveidot sistēmu, lai veiktu ģenētiskas manipulācijas ar *T. pallidum* subsp. *pallidum*, lai gan tas ir iespējams ar radnieciskiem organismiem – *Treponema denticola* (Girons et al., 2000) un *B. burgdorferi* (Eggers et al., 2002, Sartakova et al., 2000, Sohaskey et al., 1997). Šīs problēmas pamatiemesls ir *T. pallidum* subsp. *pallidum* ārējās membrānas trauslums.

2.2.3. *T. pallidum* subsp. *pallidum* virulences faktori

T. pallidum rada klīniski smagu slimību, ar intoksikāciju un iespējamu letālu iznākumu, tomēr tā virulence vēl līdz šim nav skaidra, atrasto virulences faktoru skaits ir niecīgs un nav pietiekami izpētīts. Kā jau minēts, *T. pallidum* subsp. *pallidum* nav endotoksīna-lipopolisaharīda (LPS), nav pierādīta arī eksotoksīnu produkcija (Fraser et al., 1998). Tomēr, *T. pallidum* subsp. *pallidum* veido vairākus lipoproteīnus,

kas var inducēt iekaisuma mediatoru ekspresiju caur šūnu TLR2 (toll-like receptor 2 jeb 2.zvan-veida receptori) receptoriem (Brightbill et al., 1999, Lien et al., 1999). Tiek uzskatīts, ka *T. pallidum* subsp. *pallidum* sintezē dažus citolītiskos fermentus un citotoksīnus, bet to loma sifilisa patogēnēzē nav pierādīta. Lai radītu citopātisku efektu šūnu kultūrā, ir vajadzīgs ārkārtīgi liels mikroorganismu skaits (Fitzgerald et al., 1982).

Vairāk informācijas ir par *T. pallidum* subsp. *pallidum* invāzijas faktoriem un iekaisuma reakcijas inducēšanu. Ļoti drīz pēc inficēšanās mikroorganisms nokļūst dziļākos audos un asins plūsmā (Mahoney, and Bryant, 1934, Stokes et al., 1944), izmantojot savienojumus starp endotēlija šūnām (Riley et al., 1992, Thomas et al., 1988). Tālākai invāzijai mikroorganisms izmanto oriģinālu mehānismu - izraisa matricas metālproteināzes-1 (MMP-1) veidošanos dermas šūnās (Chung et al., 2002). MMP-1 ir nepieciešams kolagēna sagraušanai, kā rezultātā *T. pallidum* subsp. *pallidum* iekļūst dziļāk audos. Pirmās saimnieka organisma molekulas, kas iesaistās iekaisuma reakcijas atbildē uz *T. pallidum* subsp. *pallidum* infekciju, ir šūnas adhēzijas molekulas uz kapilāru endotēlija šūnām – sākas serozā šķidruma un leukocītu migrācija no asinsvadiem uz inficētajiem audiem. Tās ir ICAM-1, VCAM-1 un E-selektīns (Lee et al., 2000, Riley et al., 1992). Šī procesa galvenais izraisītājs ir 47-kDa *T. pallidum* subsp. *pallidum* lipoproteīns TpN47. Eksperimentāli ir pierādīts, ka iekaisuma reakcija ir aktīvs specifisks process, kuru rada *T. pallidum* subsp. *pallidum* molekulas. Šo aktivāciju nerada ar karstumu nonāvētā *T. pallidum* subsp. *pallidum* (Lee et al., 2000, Riley et al., 1992),

Mikroorganisma atrašanās vietā infiltrējas šūnas - polimorfonukleārie neitrofili (PMN). PMN atrod ļoti agrīna sifilisa bojājumos gan eksperimentālos modeļos (Musher et al., 1983, Sell et al., 1985, Tight, and Perkins, 1976, Turner, and

Hollander, 1957), gan arī iegūta klīniska sifilisa gadījumos (Bos et al., 1980). PMN infiltrācija nav ilgstoša, tā ir ātri pārejoša (Borenstein et al., 1991, Tight, and Perkins, 1976), un PMN skaits ir relatīvi neliels, salīdzinot ar citām bakteriālām infekcijām (Penn, 1981, Sell et al., 1982), tāpēc PMN nespēj adekvāti kontrolēt mikroorganismu izplatīšanos un pēc visai maigi izteiktās iekaisuma reakcijas notiek infekcijas procesa progresēšana.

Lokālajā iekaisuma procesā piedalās gan cilvēka endotēlija šūnas, gan dendrītiskās šūnas un makrofāgi.

Limfocītu reakcija sifilisa infekcijas gadījumā ir šāda. T limfocīti ir ļoti reaktīvi attiecībā uz galvenajiem *T. pallidum* subsp. *pallidum* proteīniem, ieskaitot TpN47, TpN17 un TpN15. Tāpat T limfocīti aktīvi reaģē uz proteīniem, kas ir mikroorganisma endoflagellu sastāvā – TpN37, TpN35, TpN33 un TpN30 (Arroll et al., 1999, Baker-Zander et al., 1988). T šūnas ir nosakāmas infekcijas vietā pēc 3 dienām kopš inficēšanās sākuma (Lukehart et al., 1980), bet maksimālo skaitu sasniedz starp 10. un 13. dienu. Paralēli iekaisuma vietā infiltrējas arī makrofāgi. To maksimālais skaits ir ap 13. dienu. Galvenais komponents, kas iesaistīts slimības patoģenēzē, ir lipoproteīni, jo tie izraisa iekaisuma reakciju saimnieka organismā (Haake, 2000). Viens no lipoproteīnu darbības momentiem ir monocītu aktivācija. Sifilisa pacientu šūnas producē interleikīnu-6 (IL-6), interferonu (IFN), tumoru nekrotisko faktoru (TNF), interleikīnu 10 (IL-10). Nelielā daudzumā interleikīns 6 (IL-6) tiek ražots jau primāra seronegatīva sifilisa pacientiem. Primāra seropozitīva sifilisa pacientiem T limfocītu helperu 1 (Th1) spēja producēt citokīnus sasniedz visaugstākās vērtības, savukārt izdalītais IL-10 daudzums samazinās. Agrīnā sekundārā sifilisa stadijā IL-6 produkcija sasniedz visaugstāko līmeni, savukārt interleikīna 2 (IL-2), IFN un TNF līmenis pakāpeniski samazinās visās turpmākajās

sifilisa stadijās, sākot no primāra seropozitīva sifilisa stadijas. Latenta sifilisa stadijā T limfocīti helperi 2 (Th2) pretēji Th1 saglabā spēju ražot citokīnus. Tas varētu būt iemesls, kāpēc attīstās latentā slimības stadija, neskatoties uz imunoloģiski kompetento šūnu klātbūtni (Podwinska et al., 2000).

Slimības sākumā primārajā bojājuma vietā notiek ļoti intensīva treponēmu vairošanās, bet starp 13. un 17.dienu kopš inficēšanās sākuma mikroorganismu skaits strauji samazinās (Lukehart et al., 1980). Tas notiek tāpēc, ka sāk darboties cilvēka imūnā atbilde – gan humorālā, gan celulārā, kas veidojas uz T- atkarīgās hipersensitivitātes fona.

Kā jau minēts, T limfocīti un makrofāgi aktīvi darbojas sifilisa primārā bojājuma vietā. Svarīgi atzīmēt, ka tie nosakāmi arī sekundārā sifilisa bojājumu vietās (Engelkens et al., 1993, McBroom et al., 1999, Wenhai et al., 2004).

Tāpat kā jebkuras bakteriālās infekcijas gadījumā IgM antivielas parādās pirmās. Nedaudz vēlāk tiek veidotas IgG antivielas. Izmantojot intratestikulāro sifilisa modeli ar trušiem, konstatēts, ka IgM un IgG antivielas ir nosakāmas jau 6. dienā pēc inficēšanas (Hanff et al., 1983, Lukehart et al., 1986, Muller et Oelerich, 1981). Specifiskas IgM antivielas tiek veidotas arī tad, kad slimības simptomi ir izzuduši vai pat tad, kad organismā vairs nav *T. pallidum* subsp. *pallidum* (Baker-Zander et al., 1985, Baker-Zander et al., 1986, Lukehart et al., 1986). IgM antivielu izžušana vai titra mazināšanās netiek izmantota, lai spriestu par ārstēšanas efektivitāti (Goh, and Voorst Vader, 2001). IgG veidojas arī vēlīnā latentā sifilisa gadījumā (Baker-Zander et al., 1985, Hanff et al., 1982), un tās augstā koncentrācijā saglabājas ļoti ilgi – eksperimentālajā trušu modelī arī 17 mēnešus pēc inficēšanas (Hanff et al., 1983). Antivielu veidošanos sifilisa gadījumā nosaka dažādi *T. pallidum* subsp. *pallidum* antigēni – virsmas lipīdi, endoflagellu proteīni, lipoproteīni, kā arī daudzi citi proteīni,

ieskaitot Tpr (McKevitt et al., 2003, Blanco et al., 2005, Leader et al., 2003). Tātad darbojas divu atšķirīgu grupu antigēni, un veidojas īpatnēja situācija. Pret proteīnu dabas antigēniem veidojas specifiskas antivielas kā jebkuras infekcijas slimības gadījumā, bet pret lipīdiem rodas t.s. nespecifiskās antivielas. Izrādās, ka lipīdu struktūra daudzos gadījumos dabā ir stipri līdzīga, tāpēc antiviēlu noteikšanai var lietot dažādus lipīdu antigēnus, ne tikai treponēmu lipīdus. Sifilisa diagnostikā vispārpieņemts ir lietot vērša sirds lipīdus jeb t. s. kardiolipīnu antigēnu.

2.3. Sifilisa attīstības stadijas un patoģenēze

2.3.1. Sifilisa attīstības stadijas

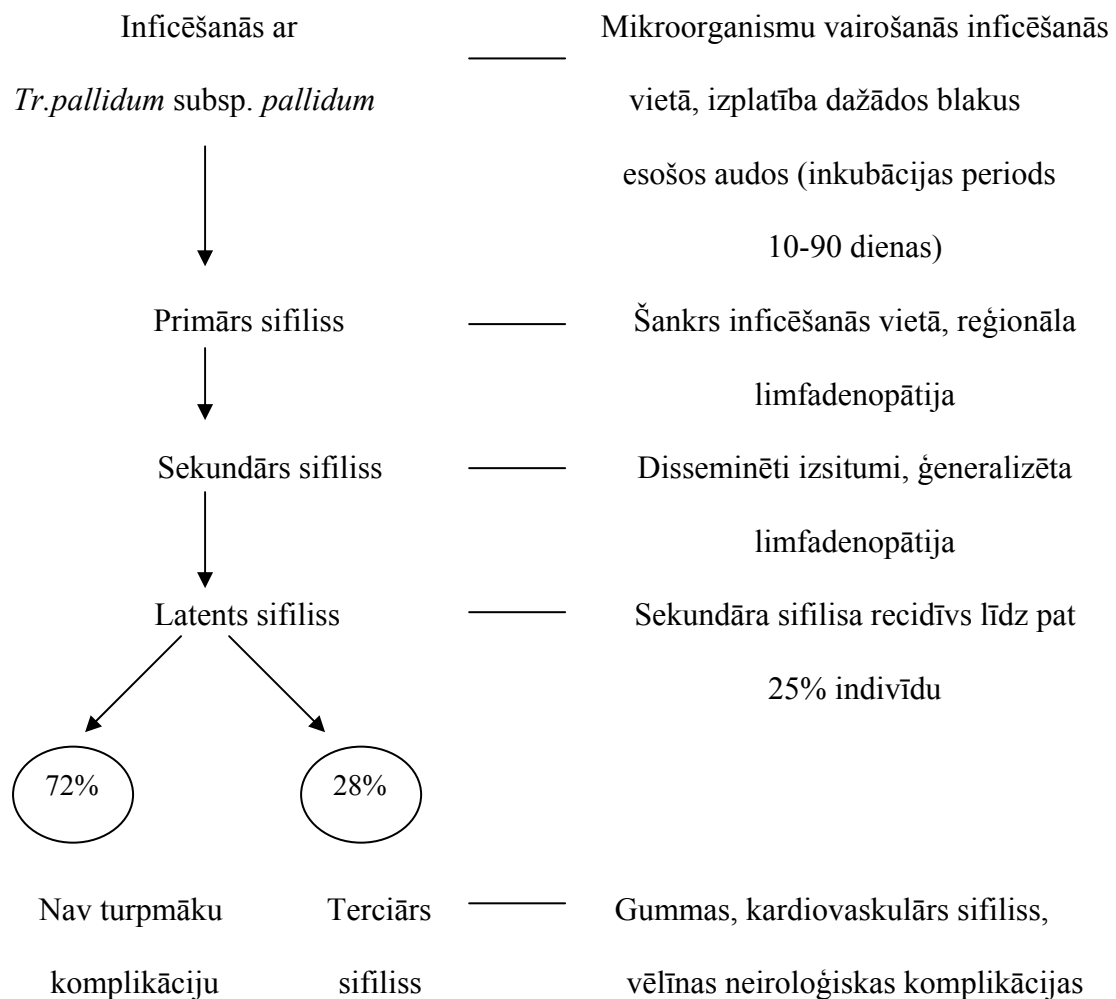
Sifiliss ir hroniska slimība, un cilvēks ir vienīgais zināmais *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* dabiskais saimnieks. Ar sifilisu inficēšanās notiek divos ceļos – tas tiek iegūts ar tieša kontakta, visbiežāk seksuāla, starpniecību, kā arī vertikāli – no mātes auglim. Cilvēka uzņēmība pret sifilisu nav augsta. Saskaņā ar vairāku pētījumu datiem, 16 līdz 30 % personu, kurām bijis seksuāls kontakts ar sifilisu-inficētiem cilvēkiem, saslimst vidēji 30 dienu laikā (inkubācijas periods ir 10-90 dienas) (Morgan et al., 1963, Schroeter et al., 1971). Vertikālā inficēšanās notiek gadījumos, kad grūtniece ir inficēta, un mikroorganismi šķērso placentu, inficējot augli grūtniecības laikā.

Neārstētam sifilisam raksturīgas vairākas attīstības stadijas. Pirmo reizi tās detalizēti aprakstīja Philippe Ricord 19.gadsimta vidū. Vēlāk šo procesu pētīja daudzi zinātnieki. Vispāratzīts ir Norvēģijā, tā sauktajā pirmsantibiotiku ērā, veikts retrospektīvs pētījums (Gjestland, 1955).

2.zīmējums

Neārstēta sifilisa dabiska attīstības gaita (Gjestland, 1955)

Inkubācijas periods – 10-90 dienas.



2.3.2. Sifilisa patoģenēze

Inficēšanās notiek, kad *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* iekļūst organismā caur ādas mikroabrāzījām vai neskartu gļotādu, tipiska ir šankra veidošanās inokulācijas vietā.

Heteroseksuāliem vīriešiem primārais šankrs visbiežāk ir lokalizēts uz dzimumlocekļa, bet 32 līdz 36% homoseksuāliem vīriešiem tas ir citās vietās, ieskaitot rectum, anālo kanālu un mutes dobumu (Hourihan et al., 2004, Mindel et al., 1989). Sievietēm primārais šankrs parasti atrodas uz kaunuma lūpām vai dzemdes kakla. Tā kā šankrs ir nesāpīgs un tas var atrasties neuzkrītošā vietā, nereti sifilisa diagnoze homoseksuāliem vīriešiem un sievietēm tiek stādīta novēloti līdz pat brīdim, kad parādās slimības vēlīnās sekas.

Primārais šankrs attīstās vidēji 3 nedēļas pēc inficēšanās; inkubācijas periods svārstās no 10 līdz 90 dienām. Primārais šankrs spontāni sadzīst 4 līdz 6 nedēļu laikā, bet tas apmēram 15% visu pacientu nav slēdzies arī tad, kad jau ir attīstīties sekundārais sifiliss (Hutchinson et al., 1994, Mindel et al., 1989, Rompalo et al., 2001).

Vairāku stundu laikā pēc inokulācijas un primārās stadijas attīstības gaitā *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* izplatās pa visu organismu. Sekundāra sifilisa izpausmes parasti notiek 3 mēnešu laikā no inficēšanās brīža un nereti ir visai grūti pamanāmas. Detalizētu sekundārā sifilisa aprakstu ir veikuši Baughn un Musher (Baughn, and Musher, 2005). Faringīts, muskuļu sāpes, nogurums un svara zudums ir sekundārā sifilisa ļoti dažādās simptomātikas piemēri. Ģeneralizēta limfadenopātija tiek konstatēta līdz pat 85% visu gadījumu (Chapel, 1980, Hira et al., 1987). Visbiežākā sekundārā sifilisa izpausme ir disseminēti izsitumi uz ādas un gļotādām. Bāli neuzkrītoši izsitumi vispirms parādās uz ķermeņa un proksimālām ekstremitātēm. Biežākie sekundārā sifilisa izsituma veidi ir: makulopapulāri (50% līdz 70% no visiem pacientiem), papulāri (12%), makulāri (10%) un anulāri papulāri (6% līdz 14%) (Chapel, 1980, Mindel et al., 1989). Izsitumi bieži vien ir lokalizēti uz roku plaukstām un kāju pēdām, 4% līdz 11% pacientu infekcija skar matu folikulus, kā rezultātā rodas galvas matainās daļas alopēcija (Hira et al., 1987, Mindel et al., 1989). Apmēram 10% pacientiem attīstās condyloma lata (Chapel, 1980, Mindel et al., 1989). Šie visai lieli bojājumi, kas parasti atrodas siltās un mitrās vietās, ieskaitot perineum un ānusu, satur ļoti daudz mikroorganismu un tāpēc ir ļoti infekciozi. Nereti sekundārais sifiliss izpaužas kā mutes dobuma, mēles un ģenitāliju gļotādu bojājumi (Chapel, 1980, Mindel et al., 1989). Sekundārais sifiliss var radīt arī kuņģa, nieru, aknu bojājumus (Greenstein et al., 1994, Mullick et al., 2004, Feher et al., 1975, Lee et al., 1971, Bansal et al., 1978, O'Regan et al., 1976, Tourville et al., 1976).

Apmēram 5% slimnieku ar sekundāru sifilisu attīstās neirosifilisa izpausmes, ieskaitot meningītu un acu bojājumus (Chapel, 1980, Stokes et al., 1944).

Klasiski, sifilisa neiroloģiskās komplikācijas tiek saistītas ar terciāro stadiju, bet ir pētījumi, kas liecina, ka *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* iekļūst centrālajā nervu sistēmā (CNS) jau agrīnākās slimības stadijās. Neurosifiliss tiek definēts kā stāvoklis, kad cerebrospinālā šķidrums (CSS) ir paaugstināta proteīnu koncentrācija un ir palielināts leukocītu skaits vai arī cerebrospinālā šķidrums ir pozitīvs VDRL tests (Venereal Disease Research Laboratory).

Diseminētie bojājumi un citas sekundārā sifilisa izpausmes parasti spontāni izzūd apmēram 3 mēnešu laikā kopš parādīšanās un neārstētiem indivīdiem tie nav vērojami dažādu laika periodu. Tad iestājas latentā fāze. Latentais sifiliss tiek iedalīts divās stadijās: pirmajā gadā pēc inficēšanās ir agrīnais latentais sifiliss, līdz pat 25% pacientu atkal parādās sekundārā sifilisa izpausmes (skat 2. zīmējumu, Gjostland, 1955). Vēlīns latents sifiliss tiek definēts kā asimptomātiska infekcija, kas ilgst vairāk par vienu gadu vai arī, kuras ilgums nav zināms. Sifilisa seroloģiskie testi latentā sifilisa gadījumā ir pozitīvi, bet seksuālais infekcijas nodošanas ceļš ir maz ticams.

Mūsdienās, kad ļoti plaši tiek lietotas antibiotikas, terciārais sifiliss ir reti sastopams. Saskaņā ar retrospektīvu Oslo pētījumu (Gjostland, 1955) apmēram viena-trešdaļa pacientu ar latentu sifilisu attīstās terciāra sifilisa klīniskās izpausmes. Nereti šīs izpausmes parādās tikai 20, pat 40 gadus pēc inficēšanās. Gummas, kardiovaskulāras komplikācijas (aortīts, ostiāla stenoze, sakulāra aneirisma) un vēlīnas neiroloģiskas komplikācijas ir biežākās terciārā sifilisa izpausmes.

2.4. Sifilisa laboratoriskā diagnostika

Neskatoties uz lielajām pārmaiņām biomedicīnas jomā un daudzu citu infekciju slimību laboratorajā diagnostikā, sifilisa laboratorā diagnostika pēdējos 60 gados ir

mainījies visai nedaudz (Edward et al., 2004). Jauni moderni molekulārās diagnostikas testi diezin vai tuvākajā laikā nomainīs ikdienā plaši lietojamās seroloģiskās analīzes, jo tie ir visai dārgi un ir nepieciešama tehniski sarežģīta aparatūra (Muller et al., 2006). Jāuzsver, ka polimerāzes ķēdes reakcija tiek izmantota par sifilisa references testu dažos specializētos centros, kā piemēram, tas ir Genitouretrālo Infekciju References Laboratorijā, PHLS, Bristolē (Goh et al., 2000). No epidemioloģiskā viedokļa, lai spriestu par slimības izplatību konkrētos ģeogrāfiskos apgabalos, būtu svarīgi veikt *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* genotipēšanu. 1998.gadā tika veikts ļoti nozīmīgs darbs, kas deva iespēju izprast mikroorganisma molekulāro epidemioloģiju. Tika ieviesta testēšanas metode, ar kuras palīdzību var noteikt atšķirības sarp mikroorganisma celmiem, analizējot *arp* un *tpr* gēnus (Pillay et al., 1998). Jāuzsver, ka metodei ir visai zema jutība un tā ir ļoti darbietilpīga. Līdz šim brīdim par šo tēmu ir bijušas tikai dažas publikācijas recenzējamās izdevumos, un mikroorganisma molekulārās dabas epidemioloģiskie pētījumi ir veikti tikai divās valstīs – ASV un Dienvidāfrikā (Molepo et al., 2007, Pillay et al., 1998, Pillay et al., 2002, Pope et al., 2005, Sutton et al., 2001).

Tāpat, ir publikācijas par viena-etapa „sendviča” hemiluminescences analīzes (CLIA) izmantošanu par sifilisa skrīninga un apstiprinošo testu (Knight et al., 2007). CLIA izmantošanas jautājums ir aktuāls arī Latvijā, jo minētais tests praksē mūsu valstī jau atsevišķos gadījumos tiek lietots. Tomēr vadošās metodes sifilisa diagnostikā pasaulē un arī Latvijā ir klasiskās – bakterioskopiskā un seroloģiskā.

2.4.1. Sifilisa bakterioskopiskā diagnostika

Sifilisa diagnostikā izmanto divas pamata metodes – bakterioskopisko izmeklēšanu (čūlu vai eroziju izdalījumu vai limfmezgla punktāta izmeklēšana natīvā preparātā mikroskopiski tumšā redzes laukā vai imūnfluorescences mikroskopā, ja preparāts

tiek krāsots ar imūnfluorescences krāsu) un seroloģiskās diagnostikas metodes. Tā kā bālā treponēma neaug uz mākslīgām barotnēm, nav iespējams lietot bakterioloģiskās izmeklēšanas metodes.

Pirmo reizi *Spirochaeta pallida* saistībā ar *T. Pallidum* aprakstīja Schaudinn un Hoffmann 1905.gadā (Schaudinn, F., and P. Hoffmann, 1904-1905), kuri no šankra paņemto izmeklējamo materiālu krāsoja ar modificētu Gimzas krāsu. Coles 1909.gadā (Coles, 1909) aprakstīja tumšā lauka mikroskopijas metodi *S. pallida* identificēšanā, sevišķi akcentējot mikroorganisma lielu kustīgumu. 20. gadsimta 60.gados *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* bakterioskopiskajā diagnostikā tika ieviests tiešās fluorescences antivielu tests (DFA) (Kellog, 1970, Kellogg and Mothershed, 1969). Vēlāk šis tests tika modificēts tādējādi, ka tajā sāka izmantot monoklonālas antivielas (Hunter, 1990, Ito et al., 1992). Bez tam, tika izveidota šī testa modifikācija, kurā lieto audu griezumus – proti, *Treponema pallidum* tiešās fluorescences antivielu audu tests (DFA-TP) (Hunter, 1990, Hunter et. al., 1984, Ingraham, 1951, Ito et al., 1991, Ito et al., 1992).

Bakterioskopiski tumšā redzes lauka mikroskopijā dzīvas treponēmas atrodamas visos agrīna un vēlīna sifilisa bojājumos. Visvairāk treponēmu ir primārā sifilomā (cietā šankrā), reģionālos limfmezglos un sekundārā svaiga sifilisa papulās. Vismazāk to ir vēlīnos sifilīdos. Metode nav izmantojama latentā sifilisa gadījumos. Analīzes jutīgums ir apmēram 80% (Smith et al., 2001). Specifiskums var būt tuvu 100%, bet tikai tad, ja izmeklēšanu veic augsti profesionāls speciālists. Jāuzsver, ka ar šo metodi var diagnosticēt svaigu saslimšanu jau dažas dienas līdz pat dažām nedēļām pirms kļūst pozitīvas seroloģiskas reakcijas. Galvenie metodes trūkumi ir, pirmkārt, tas, ka to nevar izmantot visu sifilisa formu gadījumos, un, otrkārt, analīzes ne īpaši augstais jutīgums. Turklāt metodi nav ieteicams lietot, izmeklējot čūlas vai erozijas mutē un

ānūsā, jo šajos orgānos ir saprofitiskās treponēmas, kā rezultātā var tikt iegūti viltus pozitīvi analīzes rezultāti (Goh, and Voorst Vader, 2001; Miltiņš, 1999; Smith et al., 2001).

Izmantojot tumšā redzes lauka mikroskopiju, svarīgi ir ievērot parastos darba drošības pasākumus, jo šeit ir iespējams tiešs kontakts ar dzīvu virulentu mikroorganismu. Ir ļoti būtiski spēt atšķirt *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* no morfoloģiski līdzīgajām saprofitajām spirohetām, kas ir normālās mikrofloras sastāvā ģenitāliju apgabalā (2.tabula, Larsen et al., 1995), un tāpēc tumšā redzes lauka mikroskopijas izmeklējums jāveic uzreiz pēc izmeklējamā materiāla paņemšanas.

2.tabula

Treponema pallidum subsp. *pallidum* morfoloģija un kustīgums, salīdzinot ar radniecīgām nepatogēnām treponēmām (Larsen et al., 1995)

	<i>Tr pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i>	<i>Tr. refringens</i>	<i>Tr.phagadenis</i>	<i>Tr. denticola</i>
Lokalizācija	Ādas un gļotādas bojājumi	Normāla ģenitāla flora	Normāla ģenitāla flora	Normāla mutes flora
Spirāles vijumu skaits	10-13 (6-20)	2-3 (2-5)	10-12 (10-30)	6-8 (2-8)
Garums (µm)	10 (6-20)	5-8 (5-8)	10-12 (10-30)	8 (6-16)
Platums (µm)	0.13-0.15 (0.10-0.18)	0.20-0.30 (0.20-0.50)	0.20-0.25 (0.20-0.40)	0.15-0.20
Spirāles vijuma garums (µm)	1.1 (1.0-1.5)	1.8 (1.5-2.5)	1.4-1.6 (1.5-2.0)	0.9 (0.8-1.2)
Rotācijas	No lēnām līdz ātrām; līdzīgas korķu vilķim, var rotēt, nemainot vietu	Ļoti ātras, aktīvas; dažkārt kustas tik ātri ka atgādina līniju	Lēnas līdz ātrām; rotē nemainot vietu	Lēnas līdz ātrām, bieži vien saraustītas
Liekšanās	Maigs saliekums vidusdaļā; ātri atliecas atpakaļ	lezmējas saliekuma vieta; nogludināti vijumi	Saraustīta; savijas vai vīļņojas no vietas uz vietu	Maigs saliekums; saliekumi, sagriešanās vai vīļņošāns

Veicot DFA un DFA-TP testus, izmeklējamais materiāls tiek tādā pašā veidā, kā tumšā redzes lauka mikroskopijai. Ar šiem testiem patogēnās treponēmas tiek diferencētas no nepatogēnajām, izmantojot antigēna-antivielas reakciju, un testu veikšanai kustīgas treponēmas nav nepieciešamas. Tā kā reakcijas sagatavošanai tiek izmantoti konjugāti, kas ir specifiski patogēnajām *Treponema* sugām, DFA un DFA-

TP var izmantot *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* meklēšanai no mutes un taisnās zarnas, kas ir būtiski šo testu priekšrocība, salīdzinot ar tumšā redzes lauka mikroskopiju. Otra svarīgākā DFA un DFA-TP priekšrocība ir tā, ka šos testus atšķirībā no tumšā redzes lauka mikroskopijas, var izmantot starplaboratoriju salīdzinošajā testēšanā, veicot kvalitāte skontroli, jo, kā jau minēts, sagatavotos preparātus uz DFA un DFA-TP var skatīt vairākas dienas vai pat nedēļas pēc parauga paņemšanas (Larsen et al., 1995).

2.4.2. Sifilisa seroloģiskā diagnostika

2.4.2.1. Nentreponemālie testi

Sifilisa seroloģiskās diagnostikas metodes iedala nespecifiskos testos (netreponemālie testi) un specifiskos testos (treponemālie testi). Visos nentreponemālajos testos nosaka imūnglobulīnu G (IgG) un M (IgM) anti-lipoidālās antivielas, kuras veido saimnieka organisms gan pret lipoidālajām substancēm, kuras saimnieka šūnas atbrīvo infekcijas agrīnajās stadijās, gan arī tām lipoidālajām vielām, kuras izdalās no pašām bālajām treponēmām. Nespecifiskos testos par antigēnu izmanto kardiolipīna antigēnu, ko iegūst no vērša sirds muskuļa. Šajos testos nosaka antivielas, kas veidojušās pret lipīdiem, tas ir, nespecifiskās antivielas. Nespecifiskie testi ir flokulācijas testi, kur izveidojies komplekss “antigēns + antiViela” veido pārslas.

Vēsturiski no nentreponemālajiem testiem VDRL (*Veneral Disease Research Laboratory*) tests bija pirmais. Šo testu izveidoja August Paul von Wasserman kopā ar Albert Neisser 1906.gadā. Tests tika pilnveidots 1946.gadā, un šādā veidā tas tiek lietots arī mūsdienās (Harris et al., 1946).

SED (sifilisa ekspresdiagnostika, mikroprecipitācijas reakcija ar lipīdu antigēnu) un RPR (*Rapid Plasma Reagin*) testos tiek izmantots tāds pats antigēns kā VDRL, bet antigēnam ir pievienotas vairākas molekulas kopā ar oglekļa daļiņām, lai būtu

iespējams nolasīt testa rezultātus bez gaismas mikroskopa. VDRL testam, lai noteiktu, ir vai nav notikusi aglutinācija, ir vajadzīgs gaismas mikroskops.

No netreponemālajiem testiem, galvenokārt ASV un Kanādā, tiek lietots arī TRUST (Toluidine red unheated serum test). Arī šajā testā izmantotais antigēns ir tāds pats kā VDRL reakcijā, bet atšķirībā no SED un RPR antigēnam ir pievienots EDTA (antikoagulants – etilēndiaminotetraetiķskābe), holīna hlorīds un sarkanā toluidīna krāsviela. Arī šī testa rezultātu nolasīšanai mikroskops nav vajadzīgs (Pettit et al., 1983).

Netreponemālos testus izmanto par caurskates (skrīninga) testiem sifilisa diagnostikā. Bez tam saskaņā ar Eiropas vadlīnijām netreponemālos testus izmanto sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanā un izvērtēšanā (Goh, and Voorst Vader, 2001). Netreponemālie testi neder diagnozes apstiprināšanai. Vēsturiski par sifilisa izārstēšanas laboratorajiem testiem bez netreponemālajiem tika izmantota arī citas reakcijas. Pirmkārt, komplementa saistīšanas (Vasermana) reakcija un, otrkārt, bālās treponēmas imobilizācijas reakcija (BTIR) jeb Nelsona-Maijera tests. Tie abi ir specifiski testi. Dažādu iemeslu dēļ (tehniski sarežģīti, dārgi, nepieciešami laboratorijas dzīvnieki truši, tos nevar standartizēt) ikdienas laboratorajā praksē šos testus vairs neizmanto. Rīgā BTIR testu izmanto atsevišķās specializētās laboratorijās.

Nespecifisko antivielu diagnostiskā nozīme ir ierobežota: pirmkārt, agrīnā primārajā slimības fāzē antilipoidālās antivielas var neattīstīties, un, otrkārt, vēlīnā sifilisa gadījumā (ilgstošs latentais un terciārais sifiliss) līdz pat 30% slimnieku var nebūt antilipoidālās antivielas (Wesley et al., 2003). Netreponemālie testi ir ļoti jutīgi sekundārā sifilisa gadījumos, bet pārējo sifilisa formu gadījumos to jutība ir nepietiekama (skat 2. tabulu) (Patrick et al., 1998). Tādējādi ir aktuāls jautājums par

citu laboratoro testu izmantošanu, pirmkārt, sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanā otrkārt – sifilisa diagnostikā. Īpaši aktuāls un, varētu arī teikt, neatrisināts šis jautājums ir latentā sifilisa gadījumos, jo šajos stāvokļos klīnicists par slimību spriež, vadoties tikai no seroloģisko reakciju rādītājiem.

Izmantojot netreponemālos testus, ir jārēķinās ar to, ka visai bieži notiek viltus pozitīvas reakcijas, tas ir arī šo analīžu specifitātes rādītāji nav augsti. Viltus pozitīvo reakciju iemesli visbiežāk ir dažāda veida infekcijas, gan bakteriālas, gan arī virālas. Bez tam, šie testu var dod viltus negatīvus rezultātus gadījumos, ja pacienta antivielu titrs ir ļoti augsts: šo parādību sauc par prozona efektu (Smith et al., 2001).

Netreponemālie testi tehniski ir relatīvi vienkārši, tos var veikt ātri un tie ir ļoti lēti. Tomēr, jāuzsver, ka lai panāktu šo testu pareizu vērtējumu, ir vajadzīgs veikt laboratorijas personāla apmācību un ir nepieciešama arī atbilstoša pieredze.

2.4.2.2. Treponemālie testi

Ar treponemāliem jeb specifiskiem testiem serumā un/vai plazmā konstatē antivielas, kas veidojas pret *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* specifiskiem proteīnu dabas antigēniem.

Tehniski vienkāršākais veids, kā noteikt antivielas pret *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* specifiskajiem antigēniem, ir izmantot eritrocītu, kas sensitizēti ar *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* antigēnu, pasīvu hemaglutinācijas reakciju (Kennedy, 1990). Komerciāli pieejami ir *Treponema pallidum* hemaglutinācijas tests (TPHA), *Treponema pallidum* daļiņu aglutinācijas tests (TPPA) un *Treponema pallidum* mikrohemaglutinācijas analīze (MHA-TP). TPHA un MHA-TP testos tiek izmantoti formalinizēti aitas vai cāļa eritrocīti, kas sensitizēti ar *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* antigēnu (Nikolsa celms) (Rathlev, 1967, Tomizawa and Kasamatsu,

1966). Pacienta serums vispirms tiek sajaukts ar absorbējošu šķīdinātāju, kas pagatavots no nepatogēnajām Reitera treponēmām (*Tr.phagadenis*) un citiem absorbentiem un stabilizatoriem. Pēc tam serums tiek pārnestš uz titrēšanas plati (ja tiek veikta TPHA analīze) vai mikrotitru plati (ja tiek veikts MHA-TP), un ja serumā būs antivielas pret *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, uz plates notiks aglutinācijas reakcija. TPPA ir TPHA testa variācija. Atšķirība starp šiem testiem ir tā, ka TPPA eritrocītu vietā tiek izmantotas sensitizētas un nesensitizētas lateksa daļiņas. TPPA tiek plaši lietots Rietumeiropas valstīs un ASV. TPPA priekšrocības, salīdzinot ar TPHA, ir tādas, ka tiek uzskatīts, ka šo testu var vieglāk nolasīt un ka testa komplekta reaktīvi ir stabilāki (Sokolovsky et al., 2007).

Komerčiāli pieejamās treponemālo testu testsistēmās – imūnfermentatīvā analīze (IFA), imūnfluorescences reakcija (IFR), hemiluminiscences analīze (CLIA), westernblots (WB), imunoblots izmanto Nikolsa celma TpN15, TpN17 un TpN47 rekombinantos antigēnus. Ar šīm testsistēmām var noteikt gan IgG, gan arī IgM antivielas. Ir arī dati par citu rekombinanto antigēnu Tp0453, Tp92, Gpd izmantošanu (Wesley et al., 2003), bet šāda veida testsistēmas Latvijā vēl nav komerčiāli pieejamas.

Ir izveidotas vairākas imūnfermentatīvas analīzes (IFA) komerčiālas testsistēmas (Burdash et al., 1987, Farshy, 1985, Ijsselmuiden et al., 1989, Lefevre et al., 1990, Moyer et al., 1987, Nayar and Campus, 1993, Pedersen et al., 1987, Pedersen et al., 1982, Veldekamp and Visser, 1975, Zenker and Berman, 1990). Lai veiktu IFA, ir vajadzīga speciāla aparatūra reakcijas rezultātu fotometriskās nolasīšanas veikšanai. Saskaņā ar lietotās testsistēmas ražotāja instrukcijām, apstrādājot tesēšanas plati, parasti ir jāuzliek no 3 līdz pat 6 kvalitātes kontrolēm. Šī iemesla dēļ, lai testēšanau

būtu ekonomiski izdevīga, vienai testēšanas reizei ir jāsavāc lielāks paraugu skaits – parasti vairāk par desmit.

IFA testa pēdējos etapos pie kompleksa antigēns+antiviela tiek pievienots ferments, bet, ja veic CLIA, tiek pievienota substance, kas ir spējīga luminiscēt. CLIA ir jauns sifilisa seroloģiskās diagnostikas tests, tas tiek rekomendēts gan skrīningam, gan arī apstiprinošajā diagnostikā (Knight et al., 2007).

IFR tiek izmantota netiešās fluorescences metode (Hunter, 1990, Hunter et al., 1979). Šajā testā kā antigēnu izmanto *T. pallidum* subsp. *pallidum* (Nikolsa celms). Pacienta serums vispirms tiek atšķaidīts 1:5 sorbentā (nepatogēno Reitera treponēmu kultūru ekstrakts), lai atdalītu to treponemālo antivienu grupu, kuras ražo daži indivīdi uz nepatogēnajām treponēmām. Tad serums tiek uzklāts uz priekšmetstikla, uz kura tiek fiksētas *T. pallidum* subsp. *pallidum* (Nikolsa celms). Priekšmetstikls tiek apstrādāts ar fluorescējošu krāsu, reakciju nolasa izmantojot imūnfluorescences mikroskopu.

WB un imunoblota testi tiek veikti uz nitrocelulozes membrānas. Atšķirība starp šiem testiem ir tāda, ka WB testā *T. pallidum* subsp. *pallidum* rekombinantie antigēni (TpN15, TpN17 un TpN47) ražošanas procesā tiek uzklāti, izmantojot elektroforēzi, tas ir elektriskā lauka iespaidā notiek rekombināto proteīnu migrācija pa nitrocelulozes membrānu atbilstoši to molekulmasai. Savukārt, ražojot imunoblotu, šie antigēni tiek atdalīti viens no otra jau pirms to uzlikšanas uz membrānas. Abi testi pēc būtības ir visai līdzīgi, imunoblota metodoloģija ir jaunāka, un tā kā uz šī testa proteīnu novietošanas vietas ir precīzākas, tas varēt būt arī nedaudz labāks (Byrne et al., 1992, Meyer et al., 1994, Norgard, 1993, Sanchez et al., 1989).

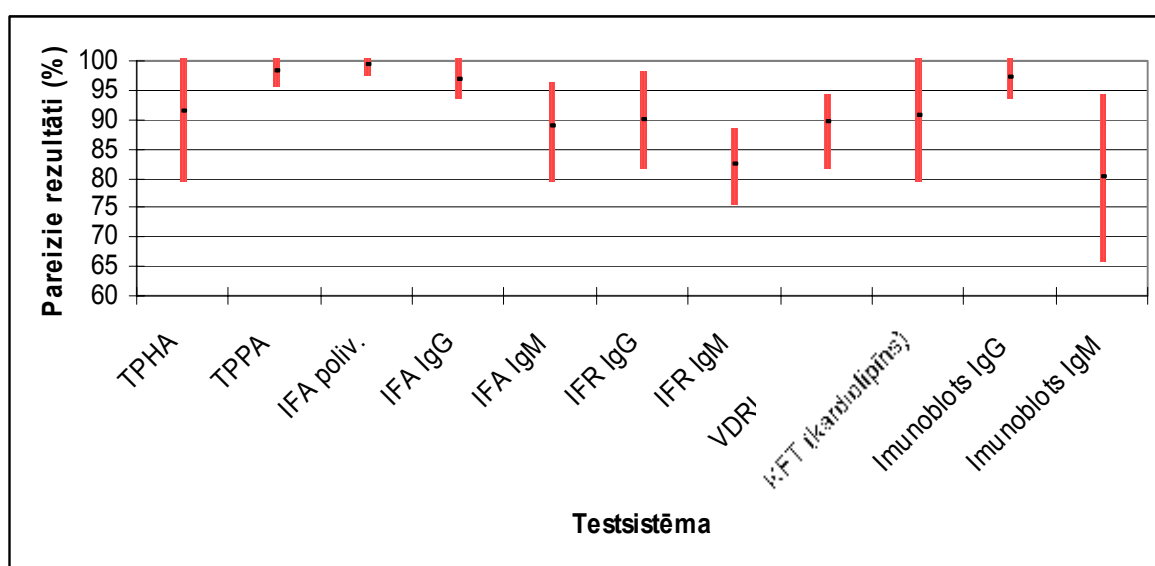
Lai veiktu Bālās treponēmas imobilizācijas reakciju (BTIR) ir nepieciešamas dzīvas *T. pallidum* subsp. *pallidum* (Nikolsa celms). Kā jau minēts iepriekš, bālās treponēmas neaug uz mākslīgām barotnēm, bet tās var uzturēt un savairot pieaugušu

trušu tēviņu sēkliniekos. Dzīvajām treponēmam pievieno izmeklējamā pacienta serumu, komplementu (jūras cūciņu asinis). Reakcija tiek nolasīta, izmantojot tumšā redzes lauka mikroskopiju. BTIR tiek uzskatīts par „zelta standartu” sifilisa apstiprinošajā diagnostikā, un reakcija tiek arī izmantota, lai spriestu par ārstēšanas efektivitāti. Tests ir tehniski sarežģīts un dārgs, un tas tiek lietots tikai specializētās laboratorijās (Bouis et al., 2001).

Treponemālo testu priekšrocības, salīdzinot ar netreponemālajiem, ir visumā augstāki jutības un specifitātes rādītāji. Bet, jāuzsver, ka arī starp treponemālajiem testiem pastāv būtiskas atšķirības. 11 Eiropas valstīs (Vācija, Austrija, Beļģija, Čehija, Somija, Lielbritānija, Itālija, Lietuva, Lihtenšteina, Slovākija un Šveice) 2000.gada martā – 2003.gada septembrī tika veikts plašs pētījums par sifilisa seroloģisko testu izvēli un ticamību. Pētījumā tika iesaistītas 423 dažādas laboratorijas. Pētīto kvalitatīvo sifilisa seroloģisko testu pareizības rādītāji ir attēloti 3. zīmējumā (Muller et al., 2006).

3. zīmējums

Kvalitatīvo sifilisa seroloģisko testu pareizības rādītāji (Muller et al., 2006)



TPCHA - *Treponema pallidum* hemagglutination test

TPPA - *Treponema pallidum* particle agglutination test

IFA poliv. – polivalenta imūnfermentatīva analīze

IFA IgG – imūnfermentatīva analīze IgG

IFA IgM – imūnfermentatīva analīze IgM

IFR IgG - imūnfluorescences tests IgG

IFR IgM - imūnfluorescences tests IgM

VDRL – *Veneral disease research laboratory test*

SED – Mikroprecipitācijas reakcija ar lipīdu antigēnu

KFT (kardiolipīns) – kardiolipīna komplementa fiksācijas tests

Zīmējumā ir attēlots attiecīgo testu ± 1 standartnovirzes intervāls.

Saskaņā ar šī pētījuma rezultātiem no netreponemālajiem testiem labākais bija KFT – vidējā precizitāte 90.7%, intervāls no 70 līdz 100%, bet šo testu izmantoja tikai 13% no laboratorijām. Arī Latvijā šī testsistēma netiek izmantota. Savukārt, daudz plašāk lietotajam VDRL (SED) vidējā precizitāte bija 89.6%, intervāls 68 līdz 99%. Salīdzinoši ar abiem minētajiem netreponemālajiem testiem tādu plaši lietotu treponemālo testsistēmu, kā TPHA (vidējā precizitāte 91.4%, intervāls 56.1 līdz 98.2%) un IFA IgG (vidējā precizitāte 96.7%, intervāls 86.7 līdz 100%) ticamības rādītāji bija augstāki (Muller et al., 2006).

Saskaņā ar Austrum-Eiropas valstu sifilisa laboratorās diagnostikas vadlīnijām personas, kurām ir aizdomas uz latentu sifilisu, jātestē, izmantojot vienu netreponemālu testu, kā arī divus treponemālus testus. Iespējamās šādas treponemālo testu kombinācijas: IFA vai IFR + BTIR; IFA vai IFR + TPHA (Sokolovsky et al., 2007).

Saskaņā ar Eiropas vadlīnijām labākie atsevišķi ņemtie sifilisa skrīninga testi ir TPHA vai tās variācija MHA-TP (microhaemagglutination assay for *Treponema pallidum*)

vai TPPA (*Treponema pallidum* particle agglutination test). Atbilstoši šīm vadlīnijām dažreiz papildus var izmantot arī VDRL vai RPR, jo tas palīdz diferencēt svaigus saslimšanas gadījumus no veciem, izārstētajiem. IFA/IgG-tests ir ieteikts kā alternatīvs skrīninga tests (Goh, and Voorst Vader, 2001).

Apstiprinošos sifilisa laboratoros testus izmanto gadījumos, kad ir pozitīvs kāds no skrīninga testiem. Atbilstoši Eiropas vadlīnijām šādi testi ir IFA/IgG-tests (ja TPHA tiek izmantots skrīningam); TPHA (ja skrīningam izmanto IFA/IgG); IFR; imunoblots IgG, ja prognozē, ka ir bijis viltus pozitīvs TPHA un/vai IFR (Goh, and Voorst Vader, 2001).

Saskaņā ar Eiropas vadlīnijām par sifilisa seroloģisko aktivitāti ārstēšanas efektivitātes monitorēšanai izmanto VDRL-testu vai RPR-testu (vai variantus, piemēram, citus kardiopālāna/ne-treponemālus testus (Goh, and Voorst Vader, 2001)).

Arī atbilstoši Austrum-Eiropas valstu sifilisa laboratorās diagnostikas vadlīnijām šiem mērķiem izmanto kvantitatīvus netreponemālos testus (Sokolovsky et al., 2007). Kā jau minēts, netreponemālo testu liels trūkums ir zema testu jutība vēlīna latentā sifilisa gadījumos (Patrick et al., 1998).

Ārstēšanas efektivitātes vērtēšanai papildus netreponemālajiem testiem var izmantot arī citus - BTIR un imunoblota reakciju IgG klases antivielu noteikšanai pret treponēmu rekombinanto antigēnu TpN15, TpN47 un TmpA, nosakot kvantitatīvās vērtību izmaiņas (Ozolins et al., 2008). Turpmāk tekstā lietots apzīmējums imunoblots IgG. Vairāku pētījumu dati liecina, ka antivielas pret atsevišķiem *T. pallidum* subsp. *pallidum* rekombinantiem antigēniem (TpN17, TpN47, TpN15) var noteikt jau agrīnā sifilisa stadijā – pat jau inkubācijas periodā un primārā sifilisa stadijā. Tātad, ir lietderīgi sifilisa imunoblotu IgG izmantot jau slimībās agrīnās stadijās. Augsts antivielu līmenis pret *T. pallidum* subsp. *pallidum* antigēniem, it īpaši,

TpN17 proteīnu, tiek konstatēts pacientiem, kas ar sifilisu ir inficējušies nesēn. Pacientiem ar sifilisu anamnēzē (slimības ilgums 3-5 gadi un vairāk) šī aktivitāte ir mazāk izteikta. Antivielu līmeņa atšķirības pret dažādiem *T.pallidum* subsp. *pallidum* proteīniem klīniskās seroloģiskās kontroles gaitā dod iespēju veikt diferenciālo diagnozi seroloģiskās rezistences gadījumos. Bez tam, ir jāuzsver, ka, neskatoties uz to, ka pastāv atšķirības antivielu veidošanās pakāpēs pret dažādiem *T.pallidum* subsp. *pallidum* antigēniem, kopējā sifilisa imunoblota IgG testa atbilde no tā nemainās, t.i. visiem pacientiem, kas ir slimojuši vai slimo ar sifilisu, tā ir vienmēr pozitīva. Šī īpašība šo testu dara neizvietojamu gadījumos, kad sifilisa diagnoze ir jānosaka retrospektīvi.

Kā atsevišķa diagnostikas metode būtu vērtējama tieša treponēmas antigēna noteikšana, izmantojot seroloģiskās identifikācijas metodes. Bet, kā jau minēts, mikroorganisma ģenētiskā daba vēl aizvien ir nepietiekami izpētīta. Vēl joprojām ārējā *T. pallidum* membrānā nav precīzi noteikti antigēni, tāpēc spirohetas tiek sauktas par “slēptajiem patogēniem”. *Tr. pallidum* genoma gēnu dzimta tpr dalās 12 grupās. Trīs no tām (TprF, TprI, TprK) kodē ārējās membrānas proteīnus. Tā kā TprK gēniem ir daudz allēļu, eksistē daudzi *T. pallidum* ģenētiskie varianti, kas, protams, apgrūtina diagnostiku. Turklāt ir zināms, ka dažiem *T. pallidum* proteīniem ir liela līdzība ar *T. denticola* proteīniem. Līdz ar to tiešās antigēna noteikšanas metodes vēl nav līdz galam izstrādātas (Porcella, and Schwan, 2001).

Tātad, neskatoties uz lielu sifilisa seroloģisko testu klāstu, kā arī citu diagnostikas metožu izmantošanas iespējām, jautājums par vēlīna latentā sifilisa pacientu skrīningu un ārstēšanas efektivitātes vērtēšanu nav atrisināts.

2.4.2.3. Situācija ar sifilisa laboratorisko diagnostiku Latvijā

Skrīningam, ārstēšanas efektivitātes un izārstēšanās vērtējumam Latvijā parasti lieto netreponemālos testus.

Sifilisa skrīnings ir būtiski svarīgs jautājums. Īpaši aktuāli tas ir vairākām pacientu grupām – latentā sifilisa pacientu atrašanai, grūtniecēm, kā arī visos tajos gadījumos, kad ir jādiferencē sveigs saslimšanas gadījums no pārslimota un izārstēta sifilisa. Latenta sifilisa pacientiem nav slimības klīnisko izpausmju, līdz ar to klīnicists par slimību spriež, vadoties no seroloģiskajiem sifilisa diagnostikas testiem.

Kas attiecas uz grūtniecēm, tad izmeklēšana uz sifilisu Latvijā ir obligāta, jo saskaņā ar Nacionālajām vadlīnijām par Dzimumorgānu infekciju diagnostiku un ārstēšanu sifilisa skrīnings grūtniecēm jāveic pirmā apmeklējuma laikā. To dara, izmantojot nespecifiskos un specifiskos testus - VDRL vai RPR kombinācijā ar TPHA (Adijāne et al., 2001). Pārējām iedzīvotāju grupām, piemēram, izejot obligātās veselības pārbaudes, skrīnings parasti tiek veikts izmantojot tikai vienu netreponemālo testu – visbiežāk RPR. Zinot, ka RPR jutība latentā sifilisa gadījumos ir visai zema – agrīnā latentā sifilisa gadījumos 95-100%, bet vēlīnā sifilisa gadījumos tikai 73% (Patrick et al., 1998), šo pieeju nevar uzskatīt par pamatotu, jo tādējādi daudzi latentā sifilisa pacienti netiek atklāti.

3.tabulā ir attēloti visu praktiski lietojamo netreponemālo testu jutības un specifitātes rādītāji.

Sifilisa netreponemālo testu jutības un specifitātes rādītāji (Patrick at al., 1998)

Tests	Slimības Stadija:				Specifitāte %
	Primārs	Sekundārs	Agrīns Latents	Vēlīns/Terciārs	
VDRL	78 (59-87)	100	95 (88-100)	71 (37-94)	98 (96-99)
RPR (SED)	86 (77-100)	100	98 (95-100)	73	98 (93-99)
TRUST	85 (77-86)	100	98 (95-100)	-	99 (98-99)

VDRL – *Veneral disease research laboratory test*

SED – Mikroprecipitācijas reakcija ar lipīdu antigēnu

RPR – *Rapid plasma reagin*

TRUST – *Toluidine red unheated serum test*

Kā redzams no tabulas datiem, neviena no Latvijā galvenokārt izmantojamām nespecifiskajām reakcijām SED, VDRL un RPR nevar tikt uzlūkotas par optimālām ne specifitāte, ne jutība visbiežāk nerasniedz 100%. Pārējie testi Latvijā netiek lietoti un būtībā arī nav optimālāki.

No treponemāliem testiem Latvijā visbiežāk izmanto TPHA jeb hemaglutinācijas reakciju (*Treponema pallidum hemagglutination test*), imūnfermentatīvo analīzi IFA (*Enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA*) un imūnfluorescences testu IFR (*Fluorescent treponemal antibody-absorption test – FTA-ABS*). Visus minētos specifiskos treponemālos testus lieto sifilisa diagnozes apstiprināšanai un arī diferenciāldiagnostikā (Farshy, 1985; Goh, and Voorst Vader, 2001; Miltiņš, 1999; Smith et al., 2001).

Latvijā nav ieviesta obligāti izpildāma vienota sifilisa diagnostikas shēma. Izmeklēšana tiek veikta, vadoties no vairākiem dokumentiem, tai skaitā Eiropas un Austrumeiropas vadlīnijām.

Latvijā skrīningam, izņemot grūtnieces, parasti izmanto tikai nespecifiskos testus SED, VDRL vai RPR, bet apstiprināšanai visdažādākos treponemālos testus – TPHA, IFA, IFR, BTIR, imunoblotu IgG.

Ja, veicot skrīningu, primāra un sekundāra sifilisa pacientu atrašana ir vērtējama kā apmierinoša, tad latentā sifilisa pacientu konstatēšana Latvijā būtu jāpilnveido, ņemot vērā citu valstu pieredzi, finansiālos aprēķinus un laboratoriju iespējas.

2.4.3. Citas (neseroloģiskas un nebakterioskopiskas) sifilisa laboratoriskās diagnostikas metodes

Bez seroloģiskajiem testiem sifilisa diagnostikā perspektīva ir arī makroorganisma iekaisuma procesu raksturojošo laboratorisko rādītāju izmantošana. Slimības patogēnēzē ir iesaistīti lipoproteīni, jo tie izraisa iekaisuma reakciju saimnieka organismā (Haake, 2000). Iekaisuma reakcijā. Sifilisa pacientu šūnas producē interleikīnu-6 (IL-6), interferonu (IFN), tumoru nekrotisko faktoru (TNF), interleikīnu 10 (IL-10). Nelielā daudzumā interleikīns 6 (IL-6) tiek ražots jau primāra seronegatīva sifilisa pacientiem. Primāra seropozitīva sifilisa pacientiem T limfocītu helperu 1 (Th1) spēja producēt citokīnus sasniedz visaugstākās vērtības, savukārt izdalītais IL-10 daudzums samazinās. Agrīnā sekundārā sifilisa stadijā IL-6 produkcija sasniedz visaugstāko līmeni, savukārt Interleikīns 2 (IL-2), IFN un TNF līmenis pakāpeniski samazinās visās turpmākajās sifilisa stadijās, sākot no primāra seropozitīva sifilisa stadijas. Latenta sifilisa stadijā T limfocītu helperi 2 (Th2) pretēji Th1 saglabā spēju ražot citokīnus. Tas varētu būt iemesls, kāpēc attīstās latentā

slimības stadija, neskatoties uz imunoloģiski komponento šūnu klātbūtni (Podwinska et al., 2000). Bet šīs metodes plašu klīnisku pielietojumu vēl nav atradušas.

Kā atsevišķa diagnostikas metode būtu vērtējama tieša treponēmas antigēna noteikšana, izmantojot seroloģiskās identifikācijas metodes. Bet, kā jau minēts, mikroorganisma ģenētiskā daba vēl aizvien ir nepietiekami izpētīta. Vēl joprojām ārējā *T. pallidum* membrānā nav precīzi noteikti antigēni, tāpēc spirohetas tiek sauktas par “slēptajiem patogēniem”. *Tr. pallidum* genoma gēnu dzimta tpr dalās 12 grupās. Trīs no tām (TprF, TprI, TprK) kodē ārējās membrānas proteīnus. Tā kā TprK gēniem ir daudz allēļu, eksistē daudzi *T. pallidum* ģenētiskie varianti, kas, protams, apgrūtina diagnostiku. Turklāt ir zināms, ka dažiem *T. pallidum* proteīniem ir liela līdzība ar *T. denticola* proteīniem. Līdz ar to tiešās antigēna noteikšanas metodes vēl nav līdz galam izstrādātas (Porcella, and Schwan, 2001).

Tātad, neskatoties uz lielu sifilisa seroloģisko testu klāstu, kā arī citu diagnostikas metožu izmantošanas iespējām, jautājums par vēlīna latentā sifilisa pacientu skrīningu un ārstēšanas efektivitātes vērtēšanu nav atrisināts.

2.5. Sifilisa ārstēšana

Tradicionāli, izvēles preparāts sifilisa gadījumā ir penicilīns. Vairāki *Tr. pallidum* subsp. *pallidum* proteīni saista šo antibiotiku (Cunningham et al., 1987, Radolf et al., 1989, Weigel et al., 1994). Ar penicilīnu saistītie proteīni tiek iesaistīti šūnas sienā notiekošajos bioķīmiskajos procesos; proti, penicilīns iznīcina baktēriju, kavējot šūnas sienas veidošanu. Nesen tika atklāts, ka vienam no penicilīnu-saistošajiem proteīniem Tpn47 piemīt laktamāzes aktivitāte (Cha et al., 2004). Paradoksāli, bet šo aktivitāti inhibē reakcijas produkti un, mikroorganisms, neskatoties uz šo aizsardzības mehānismu, ir jutīgs pret penicilīnu. Slimību kontroles un profilakses centra

izstrādātajās vadlīnijās penicilīna alergijas gadījumā tiek ieteikts orāli ordinēt doksiciklīnu vai tetraciklīnu (izņemot grūtnieces).

Šī gadsimta sākumā kā īpaši atraktīva alternatīva penicilīna terapijai tika ieteikts azitromicīns, kas ir makrolīdu grupas antibiotika (Hook et al., 2002, Rekart et al., 2003). Azitromicīns atšķirībā no intramuskulāri ordinējamā benzidīnpenicilīna tiek nozīmēts *per os*. Ir publikācijas par to, ka agrīna sifilisa gadījumā sifilisu var sekmīgi ārstēt ar vienreizēju azitromicīna devu (Hook et al., 2002). Bet nesen veiktajos pētījumos ASV pilsētās - Sanfrancisko, Kalifornijā, Baltimorā, Sietlā, Vašingtonā un Īrijā Dublinā tika identificēti makrolīdu-rezistenti celmi (Lukehart et al., 2004); šī rezistence ir saistīta ar vienu atsevišķu bāzes mutāciju 23S rRNA gēnā (Lukehart et al., 2004, Stamm, L. V., and H. L. Bergen, 2000). Makrolīdu rezistences izplatība īpaši augsta tika konstatēta Sanfrancisko (37% no visiem 2003.gadā savāktajiem paraugiem) un Dublinā (88% no visiem 2002.gadā savāktajiem paraugiem), un arī pārējās iepriekš minētajās pilsētās tā bija visai augsta (Lukehart et al., 2004). Pilsētās ar augstu makrolīdu-rezistentu celmu pakāpi penicilīns ir izvēles preparāts. Aprakstītie piemēri liecina par laboratorisko testu pieaugušo nozīmi sifidoloģijā, jo ir pierādījies, ka ir nepieciešams veikt regulāru slimnieku populācijas seroloģisko testēšanu, kā arī veikt mikroorganisma antibakteriālās rezistences monitorēšanu atsevišķos reģionos.

3. Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes

Sifilisa diagnostikas skrīningu Latvijā parasti veic, izmantojot netreponemālos testus, kas ir lēti un vienkārši lietojami. Bet, ja starp izmeklētajiem indivīdiem ir latentā sifilisa pacienti, tad daudzos gadījumos sifiliss netiks diagnosticēts, jo minēto testu jutības rādītāji ir visai zemi. Lai spriestu par vēlīna latentā sifilisa pacientu ārstēšanas efektivitāti, arī izmanto netreponemālos testus, un arī šo testu rezultāti nav uzticami

zemās jutības dēļ. Šajā darbā tiek piedāvāts jauns latentā sifilisa diagnostikas un ārstēšanas efektivitātes vērtēšanas algoritms, izmantojot gan netreponemālus, gan treponemālus testus.

4. Darba mērķis

Izvērtēt sifilisa seroloģisko testu informativitāti, veicot diagnostisko skrīningu, latentā sifilisa apstiprinošo diagnostiku, seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanu un izveidot jaunu efektīvu diagnostisku un ārstēšanas rezultātu vērtēšanas algoritmu.

5. Darba uzdevumi

1. Pašam Rīgas Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskā centra laboratorijā veikt vēlīna latentā sifilisa pacientiem seroloģisko diagnostiku, izmantojot IFA IgG, IgM; SED; TPHA un BTIR testus, un izvērtēt testu ticamību un informativitāti. Šajā pašā laboratorijā pašam veikt ārstētiem vēlīna latentā sifilisa pacientiem sifilisa imunoblota IgG, SED un BTIR testus un izvērtēt šo testu izmantošanas lietderību ārstēšanas efektivitātes monitorēšanā. Sadarbojoties ar Iekšlietu ministrijas poliklīnikas laboratorijas ārstiem, veikt retrospektīvas analīzi par klīniski veselu indivīdu RPR, TPHA vai IFA IgG, IgM testu rezultātiem minētajā poliklīnikā un izvērtēt to efektivitāti vēlīna latentā sifilisa skrīningam. Pašam Rīgas Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskā centra laboratorijā kontrolgrupas pacientiem, kuriem nebija sifiliss, veikt IFA IgG, IgM; SED; TPHA, BTIR un sifilisa imunoblota IgG testus un izvērtēt šo testu specifitātes rādītājus.
2. Izmantojot Rīgas Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskā centra un Iekšlietu ministrijas poliklīnikas pētījumā iesaistīto pacientu ambulatorās kartes, Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Seksuāli transmisīvo

un ādas slimību centrā uzturētā valsts sifilisa pacientu datu bāzi, sadalīt iegūto testu rezultātus īsti pozitīvos, īsti negatīvos, viltus pozitīvos un viltus negatīvos.

3. Izteikt sifilisa IFA IgG, IgM testu rezultātus kvantitatīvi, izmantojot šī testa absorbcijas un robežvērtības rādītājus, optimizējot IFA koeficienta izmantošanas iespējas.
4. Aprēķināt Pīrsona korelācijas koeficientus starp IFA IgG, IgM un SED; IFA IgG, IgM un TPHA; SED un BTIR; TpN47 un BTIR, TpN17 un BTIR, TpN15 un BTIR, TmpA un BTIR rādītājiem.
5. Izveidot diagnostikas algoritmu sifilisa skrīningam, latentā sifilisa apstiprinošai diagnostikai un pacientu ārstēšanas efektivitātes vērtēšanas veikšanai.

6. Materiāls un metodes

6.1. Pētījuma grupas

Tika izveidotas četras pētījumā iesaistīto pacientu grupas.

6.1.1. Pirmā pētījuma grupa

Pirmās grupu pacienti bija Rīgas Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskā centra pacienti. Šajā grupā bija 24 vēlīna latentā sifilisa pacienti. Šīs grupas pacienti ambulatori apmeklēja Rīgas Ādas un Seksuāli transmisīvo slimību klīniskā centra poliklīniku no 2005.gada februārim līdz 2005.gada augustam. Pirmās grupas pacientiem tika veiktas sifilisa IFA IgG, IgM; SED; TPHA un BTIR analīzes.

6.1.2. Otrā pētījuma grupa

Otrā pētījuma grupā bija 52 ārstēti vēlīna latentā sifilisa pacienti. Ārstētie vēlīna latentā sifilisa pacienti bija saņēmuši ārstēšanu vismaz 3 mēnešus pirms tiem tika veiktas analīzes. Šīs grupas pacienti tika hospitalizēti Rīgas Ādas un Seksuāli

transmisīvo slimību klīniskā centra dermatoveneroloģijas nodaļā 2 gadu periodā – no 2004.gada decembra līdz 2006.gada decembrim. Otrās grupas pacientiem tika veiktas sifilisa imunoblota IgG, SED un BTIR analīzes.

6.1.3. Trešā pētījuma grupa

Trešās pētījuma grupas personas bija 18 799 klīniski veseli indivīdi, kas apmeklēja Iekšlietu ministrijas poliklīniku laika periodā no 2006.gada augusta līdz 2007.gada novembrim un viņiem tika veiktas RPR (15 829 pacientiem), TPHA (1 474 pacientiem) vai IFA IgG, IgM (1 496 pacientiem) analīzes.

6.1.4. Ceturtā pētījuma grupa (kontrolgrupa)

Ceturtajā grupā (kontrolgrupā) bija 21 Rīgas Ādas un seksuāli transmisīvā klīniskā centra apmeklētāji laika periodā no 2005.gada februāra līdz 2005.gada jūlijam, kuriem nebija sifiliss un par kuriem nebija nekādu epidemioloģisku vai anamnēzes datu par iespējamu inficēšanos ar sifilisu. Šiem pacientiem tika veiktas IFA IgG, IgM; SED; TPHA un BTIR analīzes.

6.2. Izmeklējamie materiāli

Kā izmeklējamais materiāls tika izmantots serums. Asins tika savāktas, izmantojot venozo punkciju, un tika centrifugētas, ievērojot divu stundu intervālu starp asins savākšanu un seruma atdalīšanu. Asinis līdz centrifugēšanai tika turētas slēgtā oriģinālā konteinerā. Centrifugēšana tika veikta 10 minūtes ar relatīvo centrālās spēku no 850 līdz 1000 x g slēgtā konteinerā. Ja analīzi nevarēja veikt četru stundu laikā no centrifugēšanas veikšanas, serums tika glabāts 4° līdz 6°C temperatūrā līdz testēšanai. Seruma uzglabāšana līdz apstrādei bija maksimāli līdz 7 diennaktīm.

6.3. Izmantotās metodes

6.3.1. Sifilisa IFA IgG, IgM

Tika izmantota ETI-TREPONEMA PLUS, ražotājs *DiaSorin* (Itālija), testsistēma. Tests tika veikts, inkubējot izmeklējamos materiālus mikroplates kapsulās, kas klātas ar *T. pallidum* rekombinantiem antigēniem p15, p17 un p47. Ja izmeklējamā materiālā atradās specifiskas IgG un/vai IgM antivielas, tās saistās ar cietajā fāzē esošajiem antigēniem, veidojot kompleksu antigēns-antiviela. Pēc tam kapsulas tiek mazgātas, izskalojot atlikušos testējamus paraugus. Tad pievieno fermentu peroksidāzi, kas saistās ar antigēna-antivielas kompleksu, veidojot konjugātu. Seko otra mazgāšana, kuras laikā tiek izvadīts nesaistītais materiāls. Pievieno fermenta substrātu un hromogēnu. Ja paraugā ir anti- *T. pallidum* antivielas, tad attiecīgajā kapsulā veidojas zila krāsa. Reakcija tiek apstādināta ar sērskābes šķīdumu, kas maina zilo krāsu uz dzeltenu. Krāsas intensitāte ir proporcionāla anti- *T. pallidum* antivielu koncentrācijai paraugā. Testa platē bez kapsulām, kurās ir izmeklējamie materiāli, ir arī viena tukša kapsula fona lasījuma veikšanai, viena negatīvā kontrole, trīs vāji pozitīvas kontroles un viena stipri pozitīva kontrole. Robežvērtība ir vāji pozitīvo kontroļu vidējā absorbcijas vērtība. Paraugš tiek uzskatīts par negatīvu attiecībā uz *Treponema pallidum* antivielām, ja attiecība absorbcija/robežvērtību < 0.9 . Paraugš tiek uzskatīts par pozitīvu attiecībā uz *Treponema pallidum* antivielām, ja attiecība absorbcija/robežvērtību ≥ 1.0 . Paraugš tiek uzskatīts par abšaubāmu attiecībā uz *Treponema pallidum* antivielām, ja attiecība $0.9 \leq$ absorbcija/robežvērtība < 1.0 (Farshy, 1985). Vienkāršības dēļ turpmāk šī attiecība absorbcija/robežvērtību tiks saukta par IFA koeficientu. Testi tika veikti precīzi ievērojot ražotāja instrukcijas.

6.3.2. SED

Šajā reakcijā kā antigēns tika izmantots komerciāli pieejams kardiolipīns, ražotājs „Biolik” (Ukraina). Testā tiek izmantots fosfolipīdus saturošs antigēns (kardiolipīns), kas savienojumā ar lecitīnu un holesterolu veido koloīdas daļiņas (Smith et al., 2001).

Pievienojot sifilisa slimnieka serumam šo emulsiju, veidojas flokulāts (komplekss “antigēns + antivielas”), kas izskatās kā baltas pārslas. Ja tests ir pozitīvs, tad to vērtē puskvantitatīvi, izsakot intervālā no 1+ līdz 4+. Tests tiek uzskatīts par negatīvu, ja aglutināciju nenovēro. Testi tika veikti precīzi ievērojot ražotāja instrukcijas.

6.3.3. TPHA

Tika izmantota komerciāli pieejama testsistēma „Syphagen TPHA”, ražotājs „Biokit S.A.” (Spānija). Izmeklējamo serumu pievieno aitas eritrocītiem, kas sensitizēti ar *Treponema pallidum* (Nikolsa celms) antigēniem (Smith et al., 2001). Tests ir negatīvs, ja aglutināciju nenovēro. Tests ir pozitīvs, ja novēro hemaglutināciju, ko puskvantitatīvi izsaka intervālā no 1+ līdz 4+. Testi tika veikti precīzi ievērojot ražotāja instrukcijas.

6.3.4. BTIR

Treponema pallidum (Nikolsa celms) antigēni tiek uzturēti un pārsēti, tos intratestikulāri inokulējot pieaugušu trušu tēviņu sēkliniekos. Treponēmas tiek ekstrahētas no sēklinieku audiem, un tās izmanto testa veikšanā. Sifilisa slimnieka serumā esošās antivielas komplementa klātbūtnē imobilizē treponēmas, un tās kļūst nekustīgas. Reakciju nolasa, izmantojot tumšā lauka mikroskopiju (Bouis et al., 2001). Kontrole sastāv no izmeklējamā seruma un treponēmu suspensijas, bet imobilizācijas reakcija notiek stobriņā, kurā ir izmeklējamais serums, treponēmas un komplements (jūras cūciņas asinis). Tests ir negatīvs, ja, salīdzinot ar kontroli, nekustīgas ir līdz 20% spirohetu, vāji pozitīvs, ja nekustīgas ir 20% līdz 50% spirohetu un pozitīvs, ja imobilizētas ir vairāk par 50% spirohetu.

6.3.5. Sifilisa imunoblots IgG

Tika izmantota komerciāli pieejama testsistēma INNO-LIA™ Syphilis Score, ražotājs INNOGENETICS (Beļģija) (Ebel et al., 2000). Tā ir Līnijveida Imunoloģiska analīze,

lai apstiprinātu antivienu pret *Tr. pallidum* subsp. *pallidum* klātbūtni. Trīs rekombinanti proteīni (TpN47, TpN17 un TpN15) un viens sintētisks peptīds (TnpA) ir nosegti slēptu līniju veidā uz neilona stripa ar plastmasas pamatni. Specifiskas *Tr. pallidum* subsp. *pallidum* antivielas, ja tādas ir paraugā, saistās ar antigēna līnijām uz stripa. Analīze tika veikta precīzi ievērojot ražotāja instrukcijas.

6.3.6. RPR

Šajā reakcijā kā antigēns tika izmantots komerciāli pieejams kardioliipīns, ražotājs „Biokit” (Spānija). Testā tiek izmantots fosfolipīdus saturošs antigēns (kardioliipīns), kas savienojumā ar lecitīnu un holesterolu veido koloīdas daļiņas (Smith et al., 2001). Pievienojot sifilisa slimnieka serumam šo emulsiju, veidojas flokulāts (komplekss “antigēns + antiViela”), kas izskatās kā baltas pārslas. Ja tests ir pozitīvs, tad to vērtē puskvantitatīvi, izsakot intervālā no 1+ līdz 4+. Tests tiek uzskatīts par negatīvu, ja aglutināciju nenovēro. Testi tika veikti precīzi ievērojot ražotāja instrukcijas.

6.4. Statistiskie aprēķini

Minētajiem testiem tika aprēķināti jutības un specifitātes rādītāji pēc vispārpieņemtas metodikas (Baltiņš, 2003).

Testa jutīgums ir pozitīvu rezultātu procentuāla izteiksme inficētiem pacientiem:

$$J = \bar{IP} / (\bar{IP} + VN) \times 100\%$$

J – testa jutīgums, \bar{IP} – īsti pozitīvo testa rezultātu skaits, VN – viltus negatīvo rezultātu skaits.

Testa specifiskums ir negatīvu rezultātu procentuāla izteiksme neinficētiem pacientiem:

$$S = \bar{IN} / (\bar{IN} + VP) \times 100\%$$

S – testa specifiskums, \bar{IN} – īsti negatīvo testa rezultātu skaits, VP – viltus pozitīvo rezultātu skaits.

Klasificējot visu iegūto testu rezultātus īsti pozitīvos, viltus pozitīvos un viltus negatīvos par references metodi kalpoja dermatovenerologa noteiktā galīgā diagnoze. Galīgās diagnozes noteikšanā bez laboratoriskajiem izmeklējumiem tika izmantoti arī klīniskie, epidemioloģiskie un anamnēzes dati no pacientu slimības vēsturēm un ambulatorajām kartēm, kā arī valsts sifilisa pacientu datu bāzes reģistra dati, kuru uzturētājs ir Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Seksuāli transmisīvo un ādas slimību centrs.

Pīrsona korelācijas koeficienti tika aprēķināti pēc formulas:

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}$$

kur x un y ir analizējamo lielumu vērtības.

7. Rezultāti

Laboratorisko testu rezultāti pētījumu grupu pacientiem ir attēloti 4., 5., 6. un 7. tabulās.

4. tabula

Laboratorisko testu vērtības 1. pētījuma grupai - 24 vēlīna latentā sifilisa pacientiem

(n=24)

Nr. p.k.	TPHA kvantitatīvās vērtības	TPHA pareizība	BTIR kvantitatīvs vērtējums (%)	BTIR kvalitatīvs vērtējums	BTIR pareizība	legūtais IFA IgG, IgM koeficients	IFA IgG, IgM pareizība	SED kvantitatīvās vērtības	SED pareizība
1	4	pareizs	60	pozitīvs	pareizs	8.53	pareizs	4	pareizs
2	4	pareizs	75	pozitīvs	pareizs	9.85	pareizs	4	pareizs
3	4	pareizs	75	pozitīvs	pareizs	9.85	pareizs	4	pareizs
4	3	pareizs	33	v.pozitīvs	pareizs	10.48	pareizs	1	pareizs
5	2	pareizs	30	v.pozitīvs	pareizs	10.48	pareizs	1	pareizs
6	2	pareizs	16	negatīvs	nepareizs	10.33	pareizs	negatīvs	nepareizs
7	negatīvs	nepareizs	8	negatīvs	nepareizs	7.74	pareizs	negatīvs	nepareizs
8	4	pareizs	34	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	2	pareizs
9	4	pareizs	52	pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	2	pareizs
10	4	pareizs	63	pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	4	pareizs
11	4	pareizs	43	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	3	pareizs
12	3	pareizs	33	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	2	pareizs
13	2	pareizs	23	v.pozitīvs	pareizs	9.75	pareizs	1	pareizs
14	4	pareizs	22	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	1	pareizs
15	2	pareizs	22	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	1	pareizs
16	4	pareizs	62	pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	4	pareizs
17	4	pareizs	67	pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	4	pareizs
18	3	pareizs	22	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	negatīvs	nepareizs
19	4	pareizs	60	pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	4	pareizs
20	3	pareizs	37	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	3	pareizs
21	4	pareizs	36	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	1	pareizs
22	1	pareizs	58	pozitīvs	pareizs	negatīvs	nepareizs	4	pareizs
23	4	pareizs	32	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	1	pareizs
24	4	pareizs	37	v.pozitīvs	pareizs	10.28	pareizs	2	pareizs

$$J = \bar{IP} / (\bar{IP} + VN) \times 100\%$$

J – testa jutīgums, \bar{IP} – īsti pozitīvo testa rezultātu skaits, VN – viltus negatīvo rezultātu skaits.

TPHA rezultāti 1.grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 23; viltus negatīvie rezultāti – 1;

$$\text{testa jutīgums} = 23/(23+1) \times 100\% = 95.8\%$$

BTIR rezultāti 1. grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 22; viltus negatīvie rezultāti – 2;

$$\text{testa jutīgums} = 22/(22+2) \times 100\% = 91.7\%$$

IFA IgG, IgM rezultāti 1.grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 23; viltus negatīvie rezultāti – 1;

testa jutīgums = $23/(23+1) \times 100\% = 95.8\%$

SED rezultāti 1.grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 21; viltus negatīvie rezultāti – 3;

testa jutīgums = $21/(21+3) \times 100\% = 87.5\%$

Netika konstatēta statistiski nozīmīga korelācija starp IFA IgG, IgM koeficientiem un

SED vērtībām: Pīrsona korelācijas koeficients 0.43, $p < 0.05$.

Tika konstatēta cieša korelācija starp IFA IgG, IgM un TPHA testiem: Pīrsona

korelācijas koeficients 0.83, $p < 0.05$.

Laboratorisko testu vērtības 2. pētījuma grupai - 52 ārstētiem vēlna latentā sifilisa
pacientiem (n=52)

Nr. p.k.	Sifilisa imunoblota IgG kvantitatīvas vērtības				Imunoblota IgG kvalitatīvs vērtējums	Imunoblota IgG pareizība	BTIR kvantitatīvas vērtības (%)	BTIR kvalitatīvs vērtējums	BTIR pareizība	SED kvantitatīvas vērtības	SED pareizība
	TpN47	TpN17	TpN15	TmpA							
1	3	4	4	4	pozitīvs	pareizs	31	v.pozitīvs	pareizs	3	pareizs
2	3	4	4	4	pozitīvs	pareizs	52	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
3	3	3	4	4	pozitīvs	pareizs	56	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
4	3	3	4	4	pozitīvs	pareizs	63	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
5	3	4	4	4	pozitīvs	pareizs	79	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
6	2	4	2	3	pozitīvs	pareizs	33	v.pozitīvs	pareizs	2	pareizs
7	3	4	4	4	pozitīvs	pareizs	60	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
8	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	73	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
9	1	2	2	2	pozitīvs	pareizs	65	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
10	2	2	2	2	pozitīvs	pareizs	66	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
11	1	2	1	1	pozitīvs	pareizs	27	v.pozitīvs	pareizs	2	pareizs
12	1	3	1	2	pozitīvs	pareizs	21	v.pozitīvs	pareizs	negatīvs	nepareizs
13	2	3	3	2	pozitīvs	pareizs	36	v.pozitīvs	pareizs	2	pareizs
14	0	1	1	1	pozitīvs	pareizs	30	v.pozitīvs	pareizs	1	pareizs
15	2	2	3	3	pozitīvs	pareizs	77	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
16	3	4	4	4	pozitīvs	pareizs	73	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
17	3	4	4	4	pozitīvs	pareizs	64	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
18	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	58	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
19	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	68	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
20	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	68	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
21	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	56	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
22	4	4	4	2	pozitīvs	pareizs	62	pozitīvs	pareizs	1	pareizs
23	3	4	4	4	pozitīvs	pareizs	60	pozitīvs	pareizs	3	pareizs
24	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	56	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
25	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	52	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
26	2	4	2	2	pozitīvs	pareizs	25	v.pozitīvs	pareizs	2	pareizs
27	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	39	v.pozitīvs	pareizs	2	pareizs
28	4	4	4	3	pozitīvs	pareizs	37	v.pozitīvs	pareizs	3	pareizs
29	3	3	3	3	pozitīvs	pareizs	78	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
30	3	3	3	3	pozitīvs	pareizs	58	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
31	3	4	3	2	pozitīvs	pareizs	22	v.pozitīvs	pareizs	negatīvs	nepareizs
32	1	3	1	1	pozitīvs	pareizs	21	v.pozitīvs	pareizs	negatīvs	nepareizs
33	4	4	4	4	pozitīvs	pareizs	64	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
34	2	3	2	1	pozitīvs	pareizs	8	negatīvs	nepareizs	1	pareizs
35	2	3	3	3	pozitīvs	pareizs	60	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
36	1	3	2	1	pozitīvs	pareizs	27	v.pozitīvs	pareizs	negatīvs	nepareizs
37	1	4	1	2	pozitīvs	pareizs	21	v.pozitīvs	pareizs	negatīvs	nepareizs
38	3	4	4	4	pozitīvs	pareizs	52	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
39	2	2	2	1	pozitīvs	pareizs	22	v.pozitīvs	pareizs	1	pareizs
40	2	3	2	1	pozitīvs	pareizs	25	v.pozitīvs	pareizs	negatīvs	nepareizs
41	2	3	2	2	pozitīvs	pareizs	31	v.pozitīvs	pareizs	2	pareizs
42	1	2	1	0	pozitīvs	pareizs	22	v.pozitīvs	pareizs	1	pareizs
43	2	3	3	3	pozitīvs	pareizs	65	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
44	1	3	1	1	pozitīvs	pareizs	43	v.pozitīvs	pareizs	3	pareizs
45	3	3	3	3	pozitīvs	pareizs	89	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
46	0	0	0	0	negatīvs	nepareizs	35	v.pozitīvs	pareizs	3	pareizs
47	1	3	3	3	pozitīvs	pareizs	21	v.pozitīvs	pareizs	negatīvs	nepareizs
48	3	3	3	3	pozitīvs	pareizs	24	v.pozitīvs	pareizs	4	pareizs
49	3	3	3	3	pozitīvs	pareizs	80	pozitīvs	pareizs	4	pareizs
50	3	3	3	3	pozitīvs	pareizs	27	v.pozitīvs	pareizs	1	pareizs
51	1	3	2	2	pozitīvs	pareizs	21	v.pozitīvs	pareizs	1	pareizs
52	2	3	3	1	pozitīvs	pareizs	34	v.pozitīvs	pareizs	1	pareizs

$$J = \bar{IP} / (\bar{IP} + VN) \times 100\%$$

J – testa jutīgums, \bar{IP} – īsti pozitīvo testa rezultātu skaits, VN – viltus negatīvo rezultātu skaits.

Sifilisa imunoblota IgG rezultāti 2.grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 51; viltus negatīvie rezultāti – 1;

$$\text{testa jutīgums} = 51 / (51 + 1) \times 100\% = 98.1\%$$

BTIR rezultāti 2.grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 51; viltus negatīvie rezultāti – 1;

$$\text{testa jutīgums} = 51 / (51 + 1) \times 100\% = 98.1\%$$

SED rezultāti 2.grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 45; viltus negatīvie rezultāti – 7;

$$\text{testa jutīgums} = 45 / (45 + 7) \times 100\% = 86.5\%$$

Cieša korelācija (korelācijas koeficients 0.84, $p < 0.001$) tika konstatēta starp SED un BTIR rezultātiem. Vidēja cieša korelācija (korelācijas koeficients 0.61, $p < 0.001$) tika konstatēta starp Imunoblota IgG sintētiskā peptīda TmpA un BTIR, starp Imunoblota IgG TpN15 un BTIR (korelācijas koeficients 0.59, $p < 0.001$), kā arī TpN47 un BTIR (korelācijas koeficients 0.54, $p < 0.001$) vērtībām. Korelācija netika konstatēta starp TpN17 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.20, $p < 0.001$).

Laboratorisko testu vērtības 3. pētījuma grupai - 18 799 klīniski veseli indivīdi, tika veiktas RPR (15 829 pacientiem), TPHA (1 474 pacientiem) vai IFA IgG, IgM (1 496 pacientiem) analīzes; tabulā ir attēloti dati par pacientiem, kuriem vismaz viens no veiktajiem testiem bija pozitīvs

Nr. p.k.	Diagnoze	RPR kvantitatīvas vērtības	RPR pareizība	TPHA kvantitatīvas vērtības	TPHA pareizība	IFA IgG,IgM kvalitatīvas vērtības	IFA IgG,IgM pareizība
1	V. latents sif.	4	pareizs	4	pareizs		
2	vesels	1	nepareizs	negatīvs	pareizs		
3	V. latents sif.	4	pareizs	4	pareizs	poz.	pareizs
4	vesels	4	nepareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
5	V. latents sif.	negatīvs	nepareizs	1	pareizs	poz.	pareizs
6	V. latents sif.	negatīvs	nepareizs	1	pareizs	poz.	pareizs
7	V. latents sif.	2	pareizs				
8	V. latents sif.	negatīvs	nepareizs	2	pareizs		
9	V. latents sif.	2	pareizs				
10	V. latents sif.	4	pareizs	4	pareizs	poz.	pareizs
11	V. latents sif.	negatīvs	nepareizs	1	pareizs	poz.	pareizs
12	V. latents sif.	negatīvs	nepareizs	2	pareizs	poz.	pareizs
13	V. latents sif.	2	pareizs	3	pareizs	poz.	pareizs
14	V. latents sif.	2	pareizs	1	pareizs	poz.	pareizs
15	V. latents sif.	2	pareizs	4	pareizs	poz.	pareizs
16	V. latents sif.	4	pareizs	2	pareizs		
17	vesels	negatīvs	pareizs	2	nepareizs		
18	V. latents sif.	negatīvs	nepareizs	3	pareizs	poz.	pareizs
19	V. latents sif.	negatīvs	nepareizs	2	pareizs		
20	V. latents sif.	4	pareizs	4	pareizs		
21	vesels	4	nepareizs			negatīvs	pareizs

$$J = \bar{IP} / (\bar{IP} + VN) \times 100\%$$

J – testa jutīgums, \bar{IP} – īsti pozitīvo testa rezultātu skaits, VN – viltus negatīvo rezultātu skaits.

RPR rezultāti 3.grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 10; viltus negatīvie rezultāti – 7;

$$\text{testa jutīgums} = 10/(10+7) \times 100\% = 58.8\%$$

TPHA rezultāti 3.grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 15; viltus negatīvie rezultāti – 0;

$$\text{testa jutīgums} = 15/(15+0) \times 100\% = 100.0\%$$

IFA rezultāti 3. grupas pacientiem:

īsti pozitīvie rezultāti – 10; viltus negatīvie rezultāti – 0;

testa jutīgums = $10/(10+0) \times 100\% = 100.0\%$

Laboratorisko testu rezultāti ceturtnās pētījuma grupas (kontrolgrupas) personām: 21

cilvēks, kuriem nebija sifiliss un par kuriem nebija nekādu epidemioloģisku vai

anamnēzes datu par iespējamu inficēšanos ar sifilisu

Nr. p.k.	SED kvantitatīvas vērtības	SED pareizība	TPHA kvantitatīvas vērtības	TPHA pareizība	BTIR kvantitatīvas vērtības (%)	BTIR kvalitatīvs vērtējums	BTIR pareizība	IFA IgG, IgM kvalitatīvs vērtējums	IFA IgG, IgM pareizība	Imunoblota IgG, IgM kvalitatīvs vērtējums	Imunoblota IgG, IgM pareizība
1	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	8	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
2	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	8	negatīvs	pareizs	pozitīvs	nepareizs	negatīvs	pareizs
3	1	nepareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
4	4	nepareizs	1	nepareizs	22	v.pozitīvs	nepareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
5	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
6	2	nepareizs	negatīvs	pareizs	13	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
7	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
8	negatīvs	pareizs	1	nepareizs	14	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
9	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
10	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
11	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	5	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
12	negatīvs	pareizs	1	nepareizs	14	negatīvs	pareizs	pozitīvs	nepareizs	negatīvs	pareizs
13	negatīvs	pareizs	1	nepareizs	13	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
14	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	5	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
15	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
16	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
17	negatīvs	pareizs	1	nepareizs	5	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
18	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
19	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs
20	1	nepareizs	2	nepareizs	18	negatīvs	pareizs	pozitīvs	nepareizs	negatīvs	pareizs
21	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	4	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs	negatīvs	pareizs

$$S = \bar{IN} / (\bar{IN} + VP) \times 100\%$$

S – testa specifiskums, \bar{IN} – īsti negatīvo testa rezultātu skaits, VP – viltus pozitīvo rezultātu skaits.

SED rezultāti 4.grupas pacientiem:

īsti negatīvie rezultāti – 17; viltus pozitīvie rezultāti – 4;

$$\text{testa specifitāte} = 17 / (17 + 4) \times 100\% = 81.0\%$$

TPHA rezultāti 4.grupas pacientiem:

īsti negatīvie rezultāti – 15; viltus pozitīvie rezultāti – 6;

$$\text{testa specifitāte} = 15/(15+6) \times 100\% = 71.4\%$$

BTIR rezultāti 4.grupas pacientiem:

īsti negatīvie rezultāti – 20; viltus pozitīvie rezultāti – 1;

$$\text{testa specifitāte} = 20/(20+1) \times 100\% = 95.2.0\%$$

IFA IgG, IgM rezultāti 4.grupas pacientiem:

īsti negatīvie rezultāti – 18; viltus pozitīvie rezultāti – 3;

$$\text{testa specifitāte} = 18/(18+3) \times 100\% = 85.7\%$$

Imunoblota IgG rezultāti 4.grupas pacientiem:

īsti negatīvie rezultāti – 21; viltus pozitīvie rezultāti – 0;

$$\text{testa specifitāte} = 21/(21+0) \times 100\% = 100.0\%$$

SED. Kā jau minēts, pirmajā pētījuma grupā bija 24 vēlīna latentā sifilisa pacienti. Otrā pētījuma grupā bija 52 ārstēti vēlīna latentā sifilisa pacienti. Ārstētie vēlīna latentā sifilisa pacienti bija saņēmuši ārstēšanu vismaz 3 mēnešus pirms tiem tika veiktas analīzes. Ceturtajā grupā (kontrolgrupā) bija iekļauti 21 pacients, kuriem nebija sifiliss un par kuriem nebija nekādu epidemioloģisku vai anamnēzes datu par iespējamu inficēšanos ar sifilisu. SED analīze tika veikta minēto trīs grupu pacientiem, kopā 97 personām.

Izvērtējot SED rezultātus nespecifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji:

- reakcijas jutība 1.grupas pacientiem – 87.5% (īsti pozitīvi rezultāti - 21; viltus negatīvi - 3); testa jutība 2.grupas pacientiem – 86.5% (īsti pozitīvie rezultāti – 45; viltus negatīvie – 7); apkopojošie jutības rādītāji – 86.8% (īsti pozitīvi rezultāti – 66; viltus negatīvi – 10)
- reakcijas specifitāte – 81.0% (īsti negatīvie rezultāti – 17; viltus pozitīvie – 4)
- cieša korelācija tika konstatēta starp SED un BTIR vērtībām – korelācijas koeficients 0.84 ($p < 0.001$). Vāja korelācija tika konstatēta starp SED un IFA IgG, IgM vērtībām – korelācijas koeficients 0.43 ($p < 0.05$).

TPHA. Pirmajā pētījuma grupā bija 24 vēlīna latentā sifilisa pacienti. Trešās pētījuma grupas (klīniski veseli cilvēki) ietvaros, veicot skrīningu, TPHA tika veikta 1 474 pacientiem. Ceturtajā grupā (kontrolgrupā) bija iekļauti 21 pacients, kuriem nebija sifiliss un par kuriem nebija nekādu epidemioloģisku vai anamnēzes datu par iespējamu inficēšanos ar sifilisu. Šī analīze tika veikta minēto grupu pārstāvjiem, kopā 1519 personām.

Izvērtējot TPHA rezultātus specifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji:

- reakcijas jutība 1.grupas pacientiem – 95.8% (īsti pozitīvi rezultāti - 23; viltus negatīvi - 1); testa jutība 3.grupas pacientiem – 100.0% (īsti pozitīvie rezultāti

– 15; viltus negatīvie – 0); apkopojošie jutības rādītāji – 97.4% (īsti pozitīvi rezultāti – 38; viltus negatīvi – 1)

- reakcijas specifitāte – 71.4% (īsti negatīvie rezultāti – 15; viltus pozitīvie – 6)
- tika konstatēta cieša korelācija starp IFA IgG, IgM un TPHA vērtībām – korelācijas koeficients 0.83 ($p < 0.05$).

BTIR. BTIR analīze tika veikta pirmās, otrās un ceturtais (kontrolgrupas) pārstāvjiem, kopā 97 personām.

Izvērtējot BTIR rezultātus specifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji:

- reakcijas jutība 1.grupas pacientiem – 91.7% (īsti pozitīvi rezultāti - 22; viltus negatīvi - 2); testa jutība 2.grupas pacientiem – 98.1% (īsti pozitīvie rezultāti – 51; viltus negatīvie – 1); apkopojošie jutības rādītāji – 96.1% (īsti pozitīvi rezultāti – 73; viltus negatīvi – 3)
- reakcijas specifitāte – 95.2% (īsti negatīvie rezultāti – 20; viltus pozitīvie – 1)
- cieša korelācija tika konstatēta starp SED un BTIR vērtībām – korelācijas koeficients 0.84 ($p < 0.001$). Vidēji stipra korelācija (korelācijas koeficients 0.61, $p < 0.001$) bija starp sifilisa imunobolta IgG sintētiskā peptīda TmpA un BTIR vērtībām, starp TpN15 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.59, $p < 0.001$), kā arī TpN47 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.54, $p < 0.001$). Netika konstatēta korelācija starp TpN17 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.20, $p < 0.001$).

Sifilisa IFA IgG, IgM. Pirmajā pētījuma grupā bija 24 vēlna latentā sifilisa pacienti. Trešās pētījuma grupas (klīniski veseli cilvēki) ietvaros, veicot skrīningu, analīze tika veikta 1 496 pacientiem. Ceturtajā grupā (kontrolgrupā) bija iekļauti 21 pacients, kuriem nebija sifiliss un par kuriem nebija nekādu epidemioloģisku vai anamnēzes

datu par iespējamu inficēšanos ar sifilisu. Analīze tika veikta minēto grupu pārstāvjiem, kopā 1541 personai.

Izvērtējot IFA IgG, IgM rezultātus specifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji:

- reakcijas jutība 1.grupas pacientiem – 95.8% (īsti pozitīvi rezultāti - 23; viltus negatīvi - 1); testa jutība 3.grupas pacientiem – 100.0% (īsti pozitīvie rezultāti – 10; viltus negatīvie – 0); apkopojšie jutības rādītāji – 97.1% (īsti pozitīvi rezultāti – 33; viltus negatīvi – 1)
- reakcijas specifitāte – 95.2% (īsti negatīvie rezultāti – 20; viltus pozitīvie – 1)
- tika konstatēta cieša korelācija starp IFA IgG, IgM un TPHA vērtībām – korelācijas koeficients 0.83 ($p < 0.05$). Neizteikta korelācija tika konstatēta starp SED un IFA IgG, IgM vērtībām – korelācijas koeficients 0.43 ($p < 0.05$).

Sifilisa imunoblots IgG. Šī analīze tika veikta otrai un ceturtajai (kontrolgrupa) pētījumu grupai, kopā 73 personām.

Izvērtējot sifilisa imunoblota IgG rezultātus specifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji:

- reakcijas jutība – 98.1% (īsti pozitīvi rezultāti - 51; viltus negatīvi - 1);
- reakcijas specifitāte – 100.0% (īsti negatīvie rezultāti – 21; viltus pozitīvie – 0)
- vidēji stipra korelācija (korelācijas koeficients 0.61, $p < 0.001$) bija starp sintētiskā peptīda TmpA un BTIR vērtībām, starp TpN15 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.59, $p < 0.001$), kā arī TpN47 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.54, $p < 0.001$). Netika konstatēta korelācija starp TpN17 un BTIR vērtībām (korelācijas koeficients 0.20, $p < 0.001$).

RPR. Šis tests tika veikts trešās pētījuma grupas ietvaros 15 829 personām.

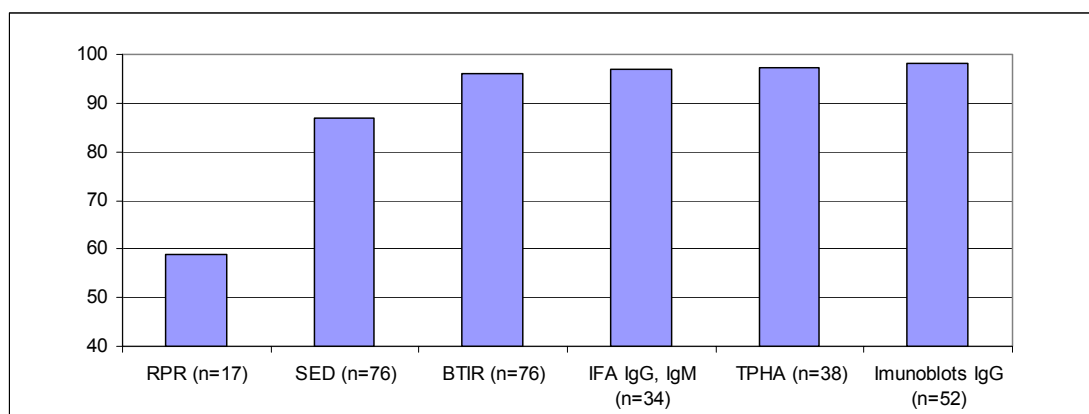
Izvērtējot RPR rezultātus nespecifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji:

- reakcijas jutība – 58.8% (īsti pozitīvi rezultāti - 10; viltus negatīvi - 7).

Veikto laboratorisko testu jutības rādītāji ir attēloti 4.zīmējumā, specifitātes – 5.zīmējumā, korelāciju koeficienti – 6.zīmējumā.

4. zīm.

Veikto laboratoro testu jutības rādītāji (%)



RPR - Ātrā plazmas reagīna tests

SED – Mikroprecipitācijas reakcija ar lipīdu antigēnu

BTIR – Bālās treponēmas imobilizācijas reakcija

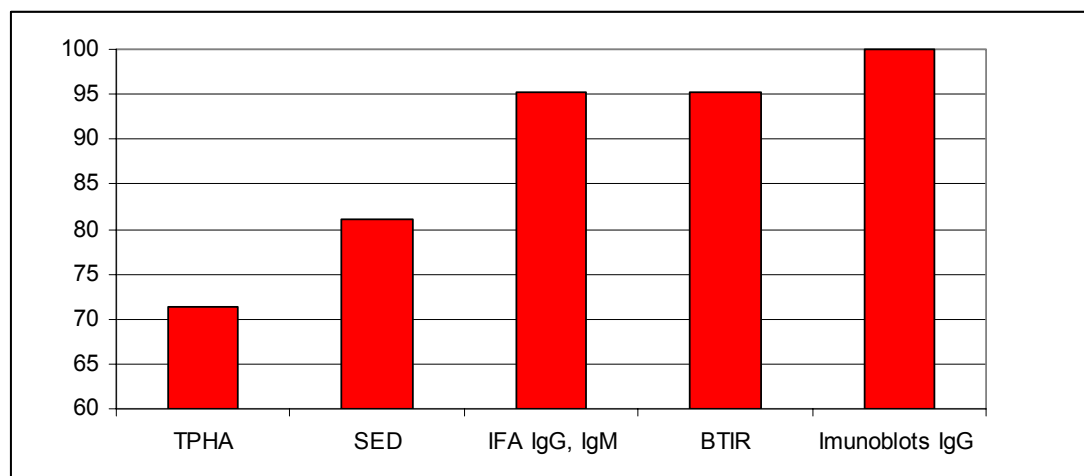
IFA IgG, IgM – Sifilisa IgG, IgM Imūnfermentatīva reakcija

TPHA – Treponema pallidum hemaglutinācijas reakcija

Imunoblots IgG – sifilisa imunoblota IgG reakcija

5. zīm.

Veikto laboratoro testu specifitātes rādītāji (%), n=21



SED – Mikroprecipitācijas reakcija ar lipīdu antigēnu

IFA IgG, IgM – Sifilisa IgG, IgM Imūnfermentatīva reakcija

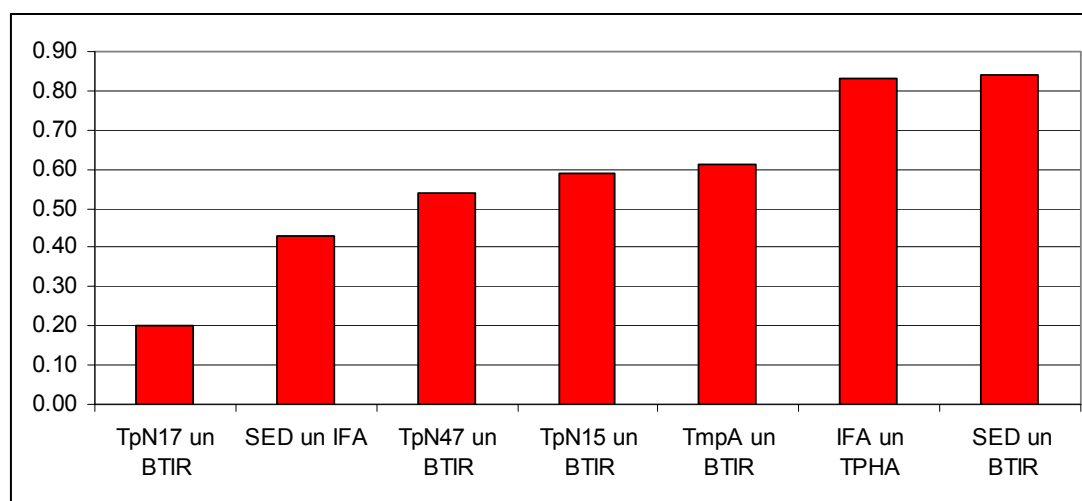
Imunoblots IgG – sifilisa imunoblota IgG reakcija

TPHA – Treponema pallidum hemaglutinācijas reakcija

BTIR – Bālās treponēmas imobilizācijas reakcija

6. zīm.

Aprēķinātie korelāciju koeficienti starp dažādām sifilisa seroloģisko reakciju vērtībām



SED – Mikroprecipitācijas reakcija ar lipīdu antigēnu

BTIR – Bālās treponēmas imobilizācijas reakcija

IFA – Sifilisa IgG, IgM Imūnfermentatīva reakcija

TPHA – Treponema pallidum hemaglutinācijas reakcija

TpN17, TpN47, TpN15, TmpA - imunoblota IgG rekombinantie proteīni

8. Diskusija

Izvērtējot SED rezultātus nespecifisko antivielu noteikšanā, tika iegūti šādi rādītāji: apkopojošā reakcijas jutība – 86.8%; specifitāte – 81.0%. RPR reakcijai jutības rādītāji bija vēl zemāki – 58.8%. Jāuzskata, ka viena netreponemāla testa izmantošana slimības gaitas novērošanā nav pietiekama.

Ņemot vērā testa visai augstos jutīguma rādītājus (97.1%), acīmredzot var rekomendēt izmantot sifilisa IFA IgG, IgM metodi slimības caurskates diagnostikā. Arī metodes specifiskuma rādītājs 95.2% ir augstāks gan par SED (81.0%), gan arī TPHA (71.4%) rādītājiem, tomēr tas nesasniedz 100%. Šī iemesla dēļ ir saprotams, ka nevar uzskatīt

par pietiekamu tikai šī testa izmantošanu slimības apstiprinošajā diagnostikā. Iegūtie IFA koeficientu rādītāji tika salīdzināti ar SED rādītājiem, aprēķinot šo testu korelāciju.

Korelācija starp IFA IgG, IgM koeficientiem un SED vērtībām ir visai neliela (Pīrsona korelācijas koeficients 0.43, $p < 0.05$). Tas ir skaidrojams ar to, ka šie divi testi atšķiras pēc sava veida (SED ir netreponemāls tests, savukārt IFA IgG, IgM treponemāls), un tāpēc atšķirīga ir šo testu izteiktības pakāpe. Ņemot vērā to, ka IFA IgG, IgM salīdzinot ar SED reakciju, uzrāda gan augstākus jutīguma (attiecīgi 97.1% un 86.8%), gan arī specifitātes rādītājus (95.2% un 81.0%) uzskatām, ka nav lietderīgi SED reakciju izmantot vēlīna latentā sifilisa skrīningā, bet šim mērķim būtu jāizmanto IFA IgG, IgM. Tas pats attiecas uz RPR reakciju tās zemā jutīguma dēļ (58.8%). Klīnicisti varētu izmantot IFA IgG, IgM koeficientus, jo to kvantitatīvās vērtības liecina par organisma imunoloģiskās atbildes intensitāti.

Cieša korelācija (Pīrsona korelācijas koeficients 0.83, $p < 0.05$) tika konstatēta starp sifilisa IFA IgG, IgM un TPHA testiem. Tas ir skaidrojums ar to, ka šie abi testi ir treponemālie testi.

Ar TPHA metodi tika iegūti visai augsti jutīguma rādītāji – 97.4%. Tas ir ļoti labs caurskates diagnostikas tests vēlīna latentā sifilisa diagnostikai. Savukārt specifitātes rādītāji 71,4% ir salīdzinoši zemi, tāpēc viens pats šis tests noteikti nav izmantojams apstiprinošā diagnostikā.

BTIR jutības (96.1%) un specifitātes (95.2%) rādītāji ir augsti, taču jāņem vērā šī testa galvenie trūkumi: tas ir tehniski sarežģīts, dārgs, tā veikšanai nepieciešami dzīvnieki, un to nav iespējams standartizēt.

Vairāku citu pētījumu dati liecina, ka antivielas pret atsevišķiem *T. pallidum* subsp. *pallidum* rekombinantiem antigēniem (TpN17, TpN47, TpN15) var noteikt jau agrīnā

sifilisa stadijā – pat jau inkubācijas periodā un primārā sifilisa stadijā. Tātad, ir lietderīgi sifilisa imunoblota IgG izmantot jau slimībās agrīnās stadijās.

Augsts antivielu līmenis pret *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* antigēniem, it īpaši, TpN17 proteīnu, tiek konstatēts pacientiem, kas ar sifilisu ir inficējušies nesēn. Pacientiem ar sifilisu anamnēzē (slimības ilgums 3-5 gadi un vairāk) šī aktivitāte ir mazāk izteikta.

Antivielu līmeņa atšķirības pret dažādiem *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* proteīniem klīniskās seroloģiskās kontroles gaitā, dod iespēju veikt diferenciālo diagnozi seroloģiskās rezistences gadījumos.

Bez tam, ir jāuzsver, ka neskatoties uz to, ka pastāv atšķirības antivielu veidošanās pakāpēs pret dažādiem *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* antigēniem, kopējā sifilisa imunoblota IgG testa atbilde no tā nemainās, t.i. visiem pacientiem, kas ir slimojuši vai slimo ar sifilisu, tā ir vienmēr pozitīva. Šī īpašība šo testu dara neizvietojamu gadījumos, kad sifilisa diagnozi ir jānosaka retrospektīvi.

Rekombinanto *T. pallidum* subsp. *pallidum* antigēnu TpN47 (Tp0574), TpN17, TpN15 (Tp0171), TmpA, TpN44.5 (Tp0768), TpN17 (Tp0435) izmantošanai ir priekšrocības, salīdzinot ar nespecifiskiem lipoidāliem antigēniem (SED, RPR reakcijas), jo izmantojot pēdējos, agrīna un vēlīna sifilisa pacientiem tiek konstatēts līdz pat 30 % viltus negatīvu rezultātu (Wesley et al., 2003). Saskaņā ar mūsu darba datiem sifilisa imunoblota IgG jutība, salīdzinot ar netreonemālajiem testiem - RPR un SED, ir ievērojami augstāka (attiecīgi 98.1%, 58,8% un 86.8%). Tas atbilst pētījumu rezultātiem, kas tika veikti Alfrēda Formjēra Institutā (Ebel *et al.*, 2000), kur testējot 683 sifilisa-pozitīvus paraugus ar sifilisa imunoblotu IgG, kā pozitīvi tika noteikti 681 un 2 paraugi deva apšaubāmu rezultātu. Tādējādi, pateicoties augstajai testa jutībai, sifilisa imunoblots IgG varētu būt ļoti efektīva sijājošās diagnostikas

analīze. Īpaši nozīmīgs tas būtu, lai konstatētu vēlīna latentā sifilisa gadījumus. Diemžēl patreiz šis tests ir relatīvi dārgs.

Var uzskatīt, ka jautājums par citu diagnostikas metožu pilnvērtīgu izmantošanu slimības gaitas novērošanā paliek atklāts, jo netreponemālo testu jutības un specifitātes rādītāji gan pēc literatūras, gan arī šajā pētījumā iegūtajiem dati nav īpaši augsti.

Perspektīva ir iekaisuma procesu raksturojošo laboratoro rādītāju izmantošana. Slimības patogēnēzē ir iesaistīti lipoproteīni, jo tie izraisa iekaisuma reakciju saimnieka organismā (Haake, 2000). Lipoproteīni ir intaktu spirohetu komponents, kas izraisa monocītu aktivāciju, tādējādi tiem ir svarīga nozīme iekaisuma reakcijā. Sifilisa pacientu šūnas producē interleikīnu-6 (IL-6), interferonu (IFN), tumoru nekrotisko faktoru (TNF), interleikīnu 10 (IL-10). Nelielā daudzumā interleikīns 6 (IL-6) tiek ražots jau primāra seronegatīva sifilisa pacientiem. Primāra seropozitīva sifilisa pacientiem T limfocītu helperu 1 (Th1) spēja producēt citokīnus sasniedz visaugstākās vērtības, savukārt izdalītais IL-10 daudzums samazinās. Agrīnā sekundārā sifilisa stadijā IL-6 produkcija sasniedz visaugstāko līmeni, savukārt Interleikīns 2 (IL-2), IFN un TNF līmenis pakāpeniski samazinās visās turpmākajās sifilisa stadijās, sākot no primāra seropozitīva sifilisa stadijas. Latenta sifilisa stadijā T limfocītu helperi 2 (Th2) pretēji Th1 saglabā spēju ražot citokīnus. Tas varētu būt iemesls, kāpēc attīstās latentā slimības stadija, neskatoties uz imunoloģiski komponento šūnu klātbūtni (Podwinska et al., 2000).

Zināmas atšķirības atbilstoši slimības gaitai vērojamas arī lokāli. Aktivētie makrofāgi ir dominējošās mononukleārās šūnas sekundāra sifilisa radītajos ādas bojājumos. Parasti sifilisu neuzskata par tipisku akūta iekaisuma procesu, lai gan agrīna sifilisa gadījumā ādas bojājumos neitrofilie leukocīti ir bieži atrodami. Iekaisuma rādītāju

izmantošanu sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanā varētu ierobežot tas, ka, iekaisuma process tomēr var turpināties un pat attīstīties arī pēc organismā esošo spirohetu pilnīgas iznīcināšanas, lai arī lielākā daļa sifilisa pacientu tiek sekmīgi ārstēta (Sellati et al., 1999, Sellati et al., 2001, Sellati et al., 2002).

Vēl sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas novērošanā varētu izmantot tiešu antigēna noteikšanu. Jāuzsver, ka paša mikroorganisma ģenētiskā daba vēl aizvien ir nepietiekami izpētīta. Vēl joprojām ārējā *Tr. pallidum* membrānā nav precīzi noteikti antigēni, tāpēc spirohetas tiek sauktas par “slēptajiem patogēniem”. *Tr. pallidum* genoma gēnu dzimta tpr dalās 12 grupās. Trīs no tām (TprF, TprI, TprK) kodē ārējās membrānas proteīnus. Tā kā TprK gēniem ir daudz allēļu, eksistē daudzi *T. pallidum* ģenētiskie varianti, kas, protams, apgrūtina diagnostiku. Turklāt ir zināms, ka dažiem *Tr. pallidum* proteīniem ir liela līdzība ar *Tr. denticola* proteīniem. Līdz ar to tiešās antigēna noteikšanas metodes vēl nav līdz galam izstrādātas (Porcella et al., 2001).

Vairāku citu pētījumu dati liecina, ka antivielas pret atsevišķiem *T. pallidum* subsp. *pallidum* rekombinantiem antigēniem (TpN17, TpN47, TpN15) var noteikt jau agrīnā sifilisa stadijā – pat jau inkubācijas periodā un primārā sifilisa stadijā. Tātad, ir lietderīgi sifilisa imunoblotu IgG izmantot jau slimībās agrīnās stadijās. Augsts antivielu līmenis pret *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* antigēniem, it īpaši, TpN17 proteīnu, tiek konstatēts pacientiem, kas ar sifilisu ir inficējušies nesēni. Pacientiem ar sifilisu anamnēzē (slimības ilgums 3-5 gadi un vairāk) šī aktivitāte ir mazāk izteikta.

Antivielu līmeņa atšķirības pret dažādiem *Tr.pallidum* subsp. *pallidum* proteīniem klīniskās seroloģiskās kontroles gaitā, dod iespēju veikt diferenciālo diagnozi seroloģiskās rezistences gadījumos. Bez tam, ir jāuzsver, ka neskatoties uz to, ka pastāv atšķirības antivielu veidošanās pakāpēs pret dažādiem *Tr.pallidum* subsp.

pallidum antigēniem, kopējā sifilisa imunoblota IgG testa atbilde no tā nemainās, t.i. visiem pacientiem, kas ir slimojuši vai slimo ar sifilisu, tā ir vienmēr pozitīva. Šī īpašība šo testu dara neizvietojamu gadījumos, kad sifilisa diagnozi ir jānosaka retrospektīvi.

Neskatoties uz lielajām pārmaiņām biomedicīnas jomā daudzu citu infekciju slimību laboratorajā diagnostikā, sifilisa laboratorā diagnostika pēdējos 60 ir mainījies visai nedaudz. Jauni moderni molekulārās diagnostikas testi diezin vai tuvākajā laikā nomainīs ikdienā plaši lietojamās seroloģiskās analīzes, jo tie ir visai dārgi un ir nepieciešama tehniski sarežģīta aparatūra (Muller et al., 2006). Jāuzsver, ka polimerāzes ķēdes reakcija tiek izmantota par sifilisa references testu dažos specializētos centros, kā piemēram, tas ir Genitouretrālo Infekciju References Laboratorijā, PHLS, Bristolē (Goh et al., 2000). Tāpat, ir publikācijas par viena-etapa „sendviča” hemilumiscences analīzes (CLIA) izmantošanu par sifilisa skrīninga un apstiprinošo testu (Knight et al., 2007). CLIA izmantošanas jautājums ir aktuāls arī Latvijā, jo minētais tests praksē mūsu valstī jau tiek lietots.

9.Secinājumi

Visaugstākos testu jutības rādītājus uzrāda IFA IgG, IgM (97.1%), TPHA (97.4%) un sifilisa imunoblots IgG (98.1%); arī BTIR metodei (96.1%) tie ir augsti; ievērojami zemāki jutības rādītāji ir SED (86.8%) un RPR (58.8%) reakcijām.

Visaugstākie specifitātes rādītāji ir sifilisa imunoblotam IgG (100.0%); nedaudz zemāki tie ir BTIR (95.2%) un IFA IgG, IgM (95.2%); ievērojami zemāki SED (81.0%) un TPHA (71.4%).

TPHA, IFA IgG, IgM un imunoblots IgG izmantojami vēlēna latentā sifilisa caurskates diagnostikā. IFA koeficientu var izmantot, lai spriestu par organisma imunoloģiskās atbildes intensitāti.

Vēlīna latentā sifilisa caurskates diagnostikā nav izmantojami netreponemālie testi – SED un RPR.

Labākais sifilisu apstiprinošais tests ir sifilisa imunoblots IgG, šim mērķim izmantojami arī citi treponemālie testi – BTIR, TPHA, IFA IgG, IgM.

Sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanā izmantojami SED un BTIR. Sifilisa imunoblots IgG varētu būt ļoti efektīvs caurskates diagnostes tests latentā sifilisa pacientu atrašanai. Saskaņā ar mūsu iegūtajiem datiem TmpA, TpN15 un TpN47 vērtību vērtējumu varētu būt lietderīgi izmantot vēlīna latentā sifilisa pacientu ārstēšanas efektivitātes vērtēšanai. BTIR metodes trūkumu dēļ un ne visai augstā SED jutīguma un specifitātes dēļ ir aktuāla citu iespēju, ne tikai netreponemālo testu, izmantošana sifilisa seroloģiskās aktivitātes un ārstēšanas efektivitātes novērošanā.

10. Diagnostikas algoritms sifilisa skrīningam, vēlīna latentā sifilisa apstiprinošajai diagnostikai un ārstēšanas efektivitātes vērtēšanai

10.1. Sifilisa skrīnings

Populācijā bez epidemioloģiskām un klīniskām norādēm par iespējamu inficēšanos.

Kā skrīninga tests ieteicams viens no šiem treponemāliem testiem – TPHA, IFA IgG, IgM vai sifilisa imunoblots IgG. Testa izvēle atstājama klīnicista un laboratorijas ziņā, ņemot vērā veicamo testu daudzumu, esošo aparatūru un izmaksas. Ja veicamo testu skaits ir neliels – izvēle ir starp TPHA un sifilisa imunoblotu IgG. Ieteicamākā no šīm analizēm ir sifilisa imunoblots IgG, ja vien tas finansiāli ir iespējams, jo patreiz šis tests ir dārgs. Ja veicamo testu skaits ir liels (orientējoši vairāk par 40-50 analizēm nedēļā), tad izvēle ir starp TPHA un IFA IgG, IgM. IFA IgG, IgM veikšanai vajadzīga

speciāla aparatūra – mikroplašu mazgātājs, imūnfermentatīvo analīžu optiskā blīvuma lasītājs, dators ar atbilstošu programmatūru.

10.2. Vēlīna latentā sifilisa apstiprinošā diagnostika

Ir jāgūst pozitīvas atbildes vismaz ar diviem no šiem treponemāliem testiem - TPHA, IFA IgG, IgM, sifilisa imunoblots IgG, BTIR. Iegūtais pozitīvais tests ir jāatkārto. Labākie testi ir sifilisa imunoblots IgG un BTIR, bet abi tie ir dārgi. Bez tam, BTIR veikšanai vajadzīgi dzīvnieki, bālo treponēmu tīrkultūra un to nav iespējams standartizēt. Par references testu uzskatāms sifilisa imunoblots IgG.

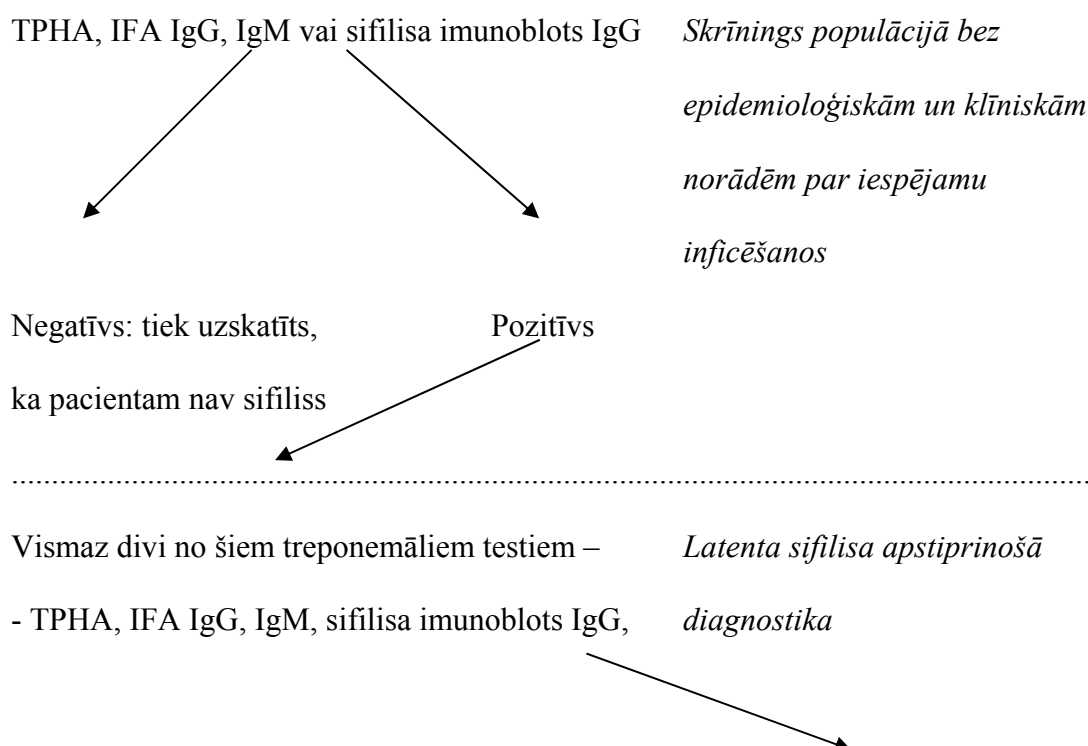
10.3. Vēlīna latentā sifilisa ārstēšanas efektivitātes vērtējums.

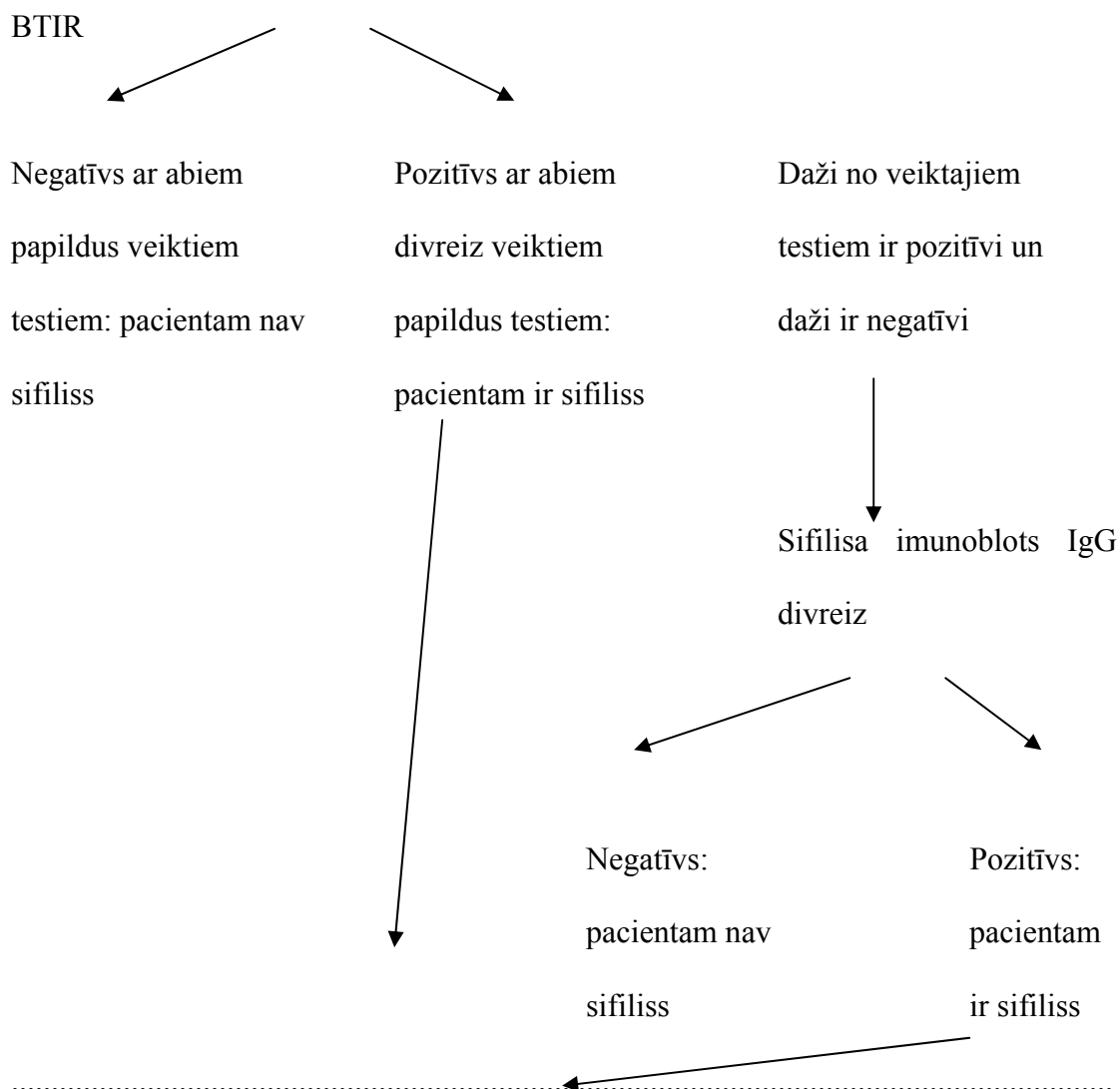
Izmantojami vismaz divi ne-treponemāli testi no šīm analīzēm - SED, VDRL vai RPR. Testu ir jāatkārto – parasti pēc 3, 6, 9 un 12 mēnešiem. Ieteicams izmantot arī BTIR un/vai sifilisa imunoblotu IgG.

Diagnostikas algoritms ir attēlots 7.zīmējumā.

7. zīm.

10.4. Diagnostikas algoritms sifilisa skrīningam, vēlīna latentā sifilisa apstiprinošai diagnostikai un pacientu ārstēšanas efektivitātes vērtēšanas veikšanai





Vismaz divas no šīm analīzēm - SED, VDRL vai RPR ik pēc 3, 6, 9 un 12 mēnešiem

Ārstēšanas efektivitātes vērtējums

Ieteicams izmantot arī BTIR un/vai sifilisa imunoblotu IgG

11. Darba novītāte

1. Gūts apstiprinājums tam, ka nav lietderīgi vēlīna latentā sifilisa skrīningam izmantot netreponemālos testus – RPR un SED.
2. Sifilisa imūnfermentatīvās analīzes IgG, IgM absorbcijas/robežvērtības koeficients ir izmantojams, lai spriestu par organisma imunoloģiskās atbildes intensitāti.

3. Sifilisa imunoblota IgG TmpA, TpN15 un TpN47 vērtību vērtējumu varētu būt lietderīgi izmantot vēlīna latentā sifilisa pacientu ārstēšanas efektivitātes vērtēšanai.

12. Darba praktiskā nozīme

1. Veikts sifilisa seroloģisko analīžu – RPR, SED, BTIR, TPHA, sifilisa imunoblota IgG, IFA IgG, IgM vērtējums vēlīna latentā sifilisa pacientiem.
2. Izstrādāts diagnostikas algoritms vēlīna latentā sifilisa skrīningam, apstiprinošai diagnostikai un pacientu ārstēšanas efektivitātes vērtēšanas veikšanai.

13. Publikācijas par pētījuma tēmu

13.1. Pilni raksti recenzējamās izdevumos

1. Pieņemts publikācijai. Ozoliņš, D., Katkovska, S., Bobojeda, L., Rancane, A. (2009) Screening Assays to Find out Late Latent Syphilis Cases – Which Is the Best One? *Internet Journal of Medical Update*, Vol. **4**, No. 2.
2. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Mikažāns, I., Paegle, D., Ančupāne, I., and Žileviča, A. (2008) Optimized routines for monitoring of treated late latent syphilis patients. *Proceedings of the Latvian Academy of science*, 2008. **6(659)**, 20-30.
3. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Žileviča (2007) Sifilisa seroloģisko diagnostikas metožu salīdzinājums. *Latvijas universitātes raksti*, Rīga, Latvijas Universitāte, **712.** sēj., 133.-141.lpp.
4. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Dērvēniece, A., Pakalne, V., Žileviča, A. (2006) Diagnostics of syphilis: evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay of IgG and IgM in comparison with other methods of serological diagnostics. *Proceedings of the Latvian Academy of science*, **4(645)**, 127-132.

5. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Žileviča, A. (2006) Treponema pallidum immobilisation test in diagnostics of syphilis. *Proceeding of the 19th International symposium bioprocess systems, III*, 57-64.

13.2. Pilni raksti medicīnas periodikā

1. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Mikažāns, I., Paegle, D., Ančupāne, I., Žileviča, A. (2007). Vai sifilisa imunoblots IgG ir izmantojams sifilisa ārstēšanas efektivitātes vērtēšanā? *Medicine, Septembris*, 9-10.
2. Ozoliņš D. (2007). Ar pacientu saistīto faktoru vērtējums, interpretējot praksē biežāk nozīmēto laboratorisko testu atbildes. *Medicine, Septembris*, 11-12.
3. Ozoliņš, D., Žileviča, A., Ančupāne, I., Hartmane, I. (2008). Sifilisa diagnostika. *Latvijas Ārsts, 7/8*, 50-55.

14. Ziņojumi par pētījuma tēmu

14.1. Ziņojumi starptautiskās konferencēs

20th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Fortaleza, Brazīlija, 2008.gada 28.septembris – 3.oktobris.

Ozolins D., Hartmane I., Mikazans I., Ancupane, I., and Zilevica, A. Comparison of serological assays in latent syphilis cases. Tēžu publikācija *Clin Chem Lab Med*, **46**, Special Suppl., pp S1 – S859

The 9th Baltic Congress of Laboratory Medicine, Jūrmala, 2008. gada 18.-20. septembris.

Referāts: Ozolins, D., Hartmane, I., Paegle, D., Mikazans, I., Ancupane, I., and Zilevica, A. Are there any problems in the routine diagnosis of syphilis? Tēžu publikācija *Laboratorine MEDICINA*, 2008, **10**, 18.

LADV, BADV & CEEDVA Conference of Dermatovenerology, Rīga, 2008.gada 20.-21.jūnijs.

Ozolins, D., Hartmane, I., Paegle, D., Mikazans, I., Ancupane, I., and

Zilevica, A. Applying of syphilis immunoblot IgG in latent syphilis cases. Tēžu publikācija Final Program and Abstract Book, 2008, 57.-58.

Science Nordic Congress of Family and laboratory medicine, Rīga-Stokholma, 2007.gada 10.-12.oktobris.

Referāts: Ozolins, D. The optimized routines for interpretation of laboratory diagnostics assays results of syphilis. Tēžu publikācija Congress book 2007.

The 8th Baltic Congress of Laboratory Medicine, Viļņa, 2006. gada 18.-20. maijs.

Ozolins, D., Hartmane, I., Pakalne, V., Zilevica, A. (2006). Comparison of syphilis serological tests. Tēžu publikācija *Laboratorine MEDICINA*, Vilnius, **1(29)**, 38.

14.2. Ziņojumi Latvijā rīkotās konferencēs

Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Seksuāli transmisīvo un ādas slimību centra sēdē, Rīgā, Latvija. 2009. gada 16.martā.

Ziņojums par promocijas darba rezultātiem

Latvijas Laboratorijas speciālistu biedrības sēdē, Rīga, Latvija. 2008. gada 23.oktobrī.

Referāts: Ozoliņš D., Sifilisa laboratoriskā diagnostika

LU 67. zinātniskajā konferencē, Rīga, Latvija. 2009. gada 6.februārī.

Referāts: Ozoliņš D., Hartmane I., Mikažāns I., Paegle D., Ančupāne I., Žileviča A.

Vēlīna latentā sifilisa ārstēšanas gaitas vērtēšanas laboratoriskās metodes.

LU 65. zinātniskajā konferencē, Rīga, Latvija. 2007. gada 1.februārī.

Referāts: Ozoliņš D., Hartmane I., Žileviča A.

Bālās treponēmas imobilizācijas reakcijas vērtējums latentā sifilisa gadījumos.

LU 64. zinātniskajā konferencē, Rīga, Latvija. 2006. gads.

Referāts: Ozoliņš D., Hartmane I., Žileviča A.

Sifilisa imūnfermentatīvās analīzes IgG, IgM vērtējums.

15.Vēres

1. Adijāne, A., Babula, O., Baranovska, D., Daize, I., Grīnberga, G., Grjūnberga, V., Grāve, Z., Hartmane, I., Jākobsone, I., Kalniņa, V. I., Kroiča, J., Kīsis, J., Lazdāne, G., Lietuviete, N., Matule, D., Mikažāns, I., Muskate, I., Ņikitina, M., Paije, B., Puķīte, I., Rošonoka, M., Siliņš, I., Smiltēns, I., Sokolova, L., Vīberga, I., Zemīte, I., Zvaigzne, M., Zvaigznīte, M. (2002) Dzimūmorgānu infekciju diagnostika un ārstēšana, Nacionālās vadlīnijas. *Latvijas ārsts*, **2**, 8-17.
2. Anderson, T., Arcini, C., Anda, S., Tangerud, A., Robertsen, G. (1986) Suspected endemic syphilis (trepanarid) in sixteenth-century Norway. *Med. Hist.* 30:351–60.
3. Anonīms (2006) *Epidemioloģiskais biļetens* [Bulletin of the epidemiology]. Sabiedrības veselības aģentūra, Rīga, **9** (105), 2. lpp.
4. Arroll, T. W., Centurion-Lara, A., Lukehart, S. A., Van Voorhis, W. C. (1999) T-cell responses to *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* antigēns during the course of experimental syphilis infection. *Infect. Immun.* **67**: 4757-4763.
5. Baker-Zander, S. A., Fohn, M. J., Lukehart, S. A. (1988) Development of cellular immunity to individual soluble antigēns of *Treponema pallidum* during experimental syphilis. *J. Immunol.* **141**: 4363-4369.
6. Baker-Zander, S. A., Hook III, E. W., Bonin, P., Handsfield, H. H., Lukehart, S. A. (1985) Antigens of *Treponema pallidum* recognized by IgG and IgM antibodies during syphilis in humans. *J. Infect. Dis.* **151**: 264-272.
7. Baker-Zander, S. A., Roddy, R. E., Handsfield, H. H., Lukehart, S. A. (1986) IgG and IgM antibody reactivity to antigens of *Treponema pallidum* after treatment of syphilis. *Sex. Transm. Dis.* **13**: 214-220.

8. Baltiņš, M. (2003) Diagnostiska testa vērtējums. Lietišķā epidemioloģija, Baltiņš M., Zinātne, Rīga, lpp.242-247.
9. Bansal, R.C., Cohn, H., Fani, K., Lynfield, Y.L. (1978) Nephrotic syndrome and granulomatous hepatitis in secondary syphilis. *Arch. Dermatol.* **114**: 1228-1229.
10. Baughn, R.E., Musher, D.M. (2005) Secondary syphilitic lesions. *Clin. Microbiol. Rev.* **18**: 205-216.
11. Benoit, S., Posey, J. E., Chenoweth, M. R., Gherardini, F. C. (2001) *Treponema pallidum* 3-phosphoglycerate mutase is a heat-labile enzyme that may limit the maximum growth temperature for the spirochete. *J. Bacteriol.* **183**: 4702-4708.
12. Berato, J., Dutour, O., Palfi, G. (1995) Lesions pathologiques de 'Cristobal,' foetus du bas Empire Roman (Tombe N 1, Costebelle, Hyeres). In: Dutour O, Palfi G, Berato J, Brun J-P, eds. L'Origin de la Syphilis en Europe—Avant ou apres 1493. Toulon, France: Centre: Archeologique du Var, 133–8.
13. Blanco, D. R., Champion, C. I., Dooley, A., Cox, D. L., Whitelegge, J. P., Faull, K., Lovett, M. A. (2005) A monoclonal antibody that conveys in vitro killing and partial protection in experimental syphilis binds a phosphorylcholine surface epitope of *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.* **73**: 3083-3095.
14. Borenstein, L. A., Ganz, T., Sell, S., Lehrer, R. I., Miller, J. N. (1991) Contribution of rabbit leukocyte defensins to the host response in experimental syphilis.

15. Bos, J. D., Hamerlinck, F., Cormane, R. H. (1980) Immunoglobulin-bearing polymorphonuclear leucocytes in primary syphilis. *Br. J. Vener. Dis.* **56**: 218-220.
16. Bouis, D. A., Popova, T. G., Takashima, A., Norgard, M. V. (2001) Dendritic cells phagocytose are activated by *Treponema pallidum*. *Infection and Immunity*, **69** (1), 518-528.
17. Brightbill, H. D., Libraty, D. H., Krutzik, S. R., Yang, R. B., Belisle, J. T., Bleharski, J. R., Maitland, M., Norgard, V., Plevy, S. E., Smale, S. T., Brennan, P. J., Bloom, B. R., Godowski, P. J., Modlin, R. L. (1999) Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science* **285**: 732-736.
18. Burdash, N. M., Hinds, K. K., Finnerty, J. A., Manos, J. P. (1987) Evaluation of the syphilis Bio-EnzaBead assay for the detection of treponemal antibody. *J. Clin. Microbiol.* **25**:808–811.
19. Byrne, R. E., Laske S., Bell, M., Larson, D., Phillips, J., Todd, J. (1992) Evaluation of a *Treponema pallidum* Western immunoblot assay as a confirmatory test for syphilis. *J. Clin. Microbiol.* **30**:115–122.
20. Centers for Disease Control and Prevention (2003) Internet use and early syphilis infection among men who have sex with men – San Francisco, California, 1999-2003. *Morbid. Mortal. Wkly. Rep.* **52**: 1229-1232.
21. Centers for Disease Control and Prevention (2001) Outbreak of syphilis among men who have sex with men – Southern California, 2000. *Morbid. Mortal. Wkly. Rep.* **50**: 117-120.

22. Centers for Disease Control and Prevention (2002). Primary and secondary syphilis among men who have sex with men – New York City, 2001. *Morbid. Mortal. Wkly. Rep.* **51**: 853-856.
23. Centers for Disease Control and Prevention (1999) Resurgen bacterial sexually transmitted disease among men who have sex with men – King County, Washington, 1997-1999. *Morbid. Mortal. Wkly. Rep.* **48**: 773-777.
24. Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. *Morbid. Mortal. Wkly. Rep.* **51** (RR-6): **1–78**.
25. Centers for Disease Control and Prevention (2004) Trends in primary and secondary syphilis and HIV infections among men who have sex with men – San Francisco and Los Angeles, California, 1998-2002. *Morbid. Mortal. Wkly. Rep.* **53**: 575-578.
26. Centurion-Lara, A., Arroll, T., Castillo, R., Shaffer, J. M., Castro, C., Van Voorhis, W. C., Lukehart, S. A. (1998) The flanking region sequences of the 15-kDa lipoprotein gene differentiate pathogenic treponemes. *J. Infect. Dis.* **177**: 1036-1040.
27. Cha, J. Y., Ishiwata, A., S. Mobashery, S. (2004) A novel beta-lactamase activity from a penicillin-binding protein of *Treponema pallidum* and why syphilis is still treatable with penicillin. *J. Biol. Chem.* **279**:14917–14921.
28. Chapel, T.A.(1978) The signs and symptoms of secondary syphilis. *Sex. Transm. Dis.* **7**: 161-164.
29. Chung, K. Y., Kim, K. S., Lee, M. G., Chang, N. S., Lee, J. B. (2002) *treponema pallidum* induces up-regulation of interstitial collagenase in human dermal fibroblasts. *Acta Derm. Venereol.* **82**: 174-178.

30. Cole, M., Ison, C., Lowndes, C., Nilsson, E., Savage, E. (2007) Sexually Transmitted Infections Surveillance in Europe. Annual Report No. 2. 2007. *European Surveillance of Sexually Transmitted Infections*, **2**: 1-85.
31. Coles, A. C. (1909) *Spirochaeta pallida*: methods of examination and detection, especially by means of the dark-ground illumination. *Br. Med. J.* **1**:1117–1120.
32. Cumberland, M. C., and Turner, T. B. (1949) Rate of multiplication of *Treponema pallidum* in normal and immune rabbits. *Am. J. Syphilis* **33**: 201-212.
33. Cunningham, T. M., Miller, J. N., Lovett, M. A. (1987) Identification of *Treponema pallidum* penicillin-binding proteins. *J. Bacteriol.* **169**:5298–5300.
34. Dean, J.S., Euler, R.C., Gumerman, G.J., Plog, F., Hevly, R.H., Karlstrom, T.N. (1985) Human behavior, demography, and paleoenvironment on the Colorado plateaus. *Amer. Antiquity* 1985; **50**: 537–554.
35. Deka, R. K., Neil, L., Hagman, K. E., Machius, M., Tomchick, D. R., Brautigam, C. A., Norgard, M. V. (2004) Structural evidence that the 32-kilodalton lipoprotein (Tp32) of *Treponema pallidum* is an L-methionine-binding protein. *J. Biol. Chem.* **279**: 55644-55650.
36. Ebel, A., Vanneste, L., Cardinaels, M., Sablon, E., Samson, I., De Bosshere, K., Hulstaert, F., Zrein, M. (2000) Validation of the INNO-LIA™ Syphilis as a confirmation assay for *Treponema pallidum* antibodies. *Scand J Immunol*, **38** (215), 219-641.
37. Edward, W., Hook III, M. D., Peeling, R. W. (2004) Syphilis control – a continuing challenge. *N. Engl. J. Med.*, **2**, 351.

38. Eggers, C. H., Caimano, M. J., Clawson, M. L., Miller, W. G., Samuels, D. S., Radolf, J. D. (2002) Identification of loci critical for replication and compatibility of a *Borrelia burgdorferi* cp32 plasmid and use of a cp32-based shuttle vector for the expression of fluorescent reporters in the Lyme disease spirochete. *Mol. Microbiol.* 43:281–295.
39. Engelkens, H. J., ten Kate, F. J., Judanarso, J., Vuzevski, V. D., van Lier, J. B., Godschalk, . C., van der Sluis, J. J., Stolz, E. (1993) The localisation of treponemes and characterisation of the inflammatory infiltrate in skin biopsies from patients with primary or secondary syphilis, or early infectious yaws. *Genitourin. Med.* **69**: 102-107.
40. Farshy, C.E. (1985) Four step enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Treponema pallidum* antibody. *J. Clin. Microbiol.* **21(3)**, 387-389.
41. Feher, J., Somogyi, T., Timmer, M., Jozsa, L. (1975) Early syphilitic hepatitis. *Lancet* **ii**: 896-899.
42. Fenton, K.A., Breban, R., Vardavas, R., Okano, T. M. (2008) Infectious syphilis in high-income settings in the 21st century. *Lancet Infect. Dis.*, **8**, 244-53.
43. Fieldsteel, A. H., Cox, D. L., Moeckli, R. A. (1981) Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture. *Infect. Immun.* **32**: 908-915.
44. Fieldsteel, A. H., Cox, D. L., Moeckli, R. A. (1982) Further studies on replication of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture of Sf1Ep cells. *Infect. Immun.* **35**: 449-455.
45. Fitzgerald, T. J., Repesh, L. A., Oakes, S. G. (1982) Morphological destruction of cultured cells by the attachment of *Treponema pallidum*. *Br. J. Vener. Dis.* **58**: 1-11.

46. Fraser, C. M., Norris, S. J., Weinstock, G. M., White, O., Sutton, G. G., Dodson, R., Gwinn, M., Hickey, E. K., Clayton, R., Ketchum, K. A., Sodergren, E., Hardham, J. M., McLeod, M. P., Salzberg, S., Peterson, J., Khalak, H., Richardson, D., Howell, J. K., Chidambaram, M., Utterback, T., McDonald, L., Artiach, P., Bowman, C., Cotton, M. D., Fujii, C., Garland, S., Hatch, B., Horst, K., Roberts, K., Sandusky, M., Weidman, J., Smith, H. O., Venter, J. C. (1998) Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete. *Science* 281:375–388.
47. Girons, I. S., Chi, B., Kuramitsu, H. (2000) Development of shuttle vectors for spirochetes. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2:443–445.
48. Giuliani, M., Palamara, G., Latini, A., Maini, A., Carlo, A. Di. (2005) Evidence of a outbreak of syphilis among men who have sex with men in Rome. *Arch. Dermatol.* **141**: 100-101.
49. Gjestland, T. (1955) 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.* **35**:3-368.
50. Goh, B. T., and Voorst Vader, P. C. (2001) European guideline for the management of syphilis. *Int. Journal of STD&AIDS*, London, Volume 12, Supplement 3, p.26.
51. Goh, B., Lewis, D., French, P., Turner, A., Young, H., Wilson, H., Jenkins, J., Burke, M. (2000) UK National Guidelines on the Management of Early Syphilis. *Clinical Effectiveness Group*, 1-18.
52. Greenblatt, R.M., Lukehart, S.A., Plummer, F.A., Quinn, T.C., Critchlow, C.W., Ashley, R.L., D’Costa, L.J., Ndinya-Achola, J.O., Corey, L., Ronald,

- A.R. (1988) Genital ulceration as a risk factor for human immunodeficiency virus infection. *AIDS* **2**: 47-50.
53. Greenstein, D.B., Wilcox, C.M., Schwartz, D.A. (1994) Gastric syphilis. Report of seven cases and review of literature. *J. Clin. Gastroenterol.* **18**: 4-9.
54. Haake, D. V. (2000) Spirochetal lipoproteins and pathogenesis *Microbiology*, **146**, 1491-1504.
55. Hanff, P. A., Bishop, N. H., Miller, J. N., Lovett, M. A. (1983) Humoral immune response in experimental syphilis to polypeptides of *Treponema pallidum*. *J. Immunol.* **131**: 1973-1977.
56. Hanff, P. A., Fehniger, T. E., Miller, J. N., Lovett, M. A. (1982) Humoral immune response in human syphilis to polypeptides of *Treponema pallidum*. *J. Immunol.* **129**: 1287-1291.
57. Harris A, Rosenberg A. A, Riedel L. M. (1946). A microfloculation test for syphilis using cardioplin antigen: preliminary report. *J Vener Dis Inform* 1946; **27**: 159–172
58. Hazlett, K. R., Cox, D. L., Decaffmeyer, M., Bennett, M. P., Desrosiers, D. C., La Vake, C. J., La Vake, M. E., Bourell, K. W., Robinson, E. J., Brasseur, R., Radolf, J. D. (2005) TP0453, a concealed outer membrane protein of *Treponema pallidum*, enhances membrane permeability. *J. Bacteriol.* **187**: 6499-6508.
59. Hazlett, K. R., Cox, D. L., Sikkink, R. A., Auch'ere, F., Rusnak, F., Radolf, J. D. (2002) Contribution of neelaredoxin to oxygen tolerance by *Treponema pallidum*. *Methods Enzymol.* **353**: 140-156.

60. Hertz, C. J., Kiertsher, S. M., Godowsky, P J., Bouis, D. A., Norgard, M. V., Roth, M. D., Modlin, R. L. (2001) Microbial lipopeptides stimulate dendritic cell maturation via Toll-like receptor 2. *Immunol.* **166**: 2444-2450.
61. Hira, S. K., Patel, J. S., Bhat, S. G., Chilikima, K., Mooney, N. (1987) Clinical manifestations of secondary syphilis. *Int. J. Dermatol.* **26**: 103-107.
62. Hook, E. W., III, D. H. Martin, J. Stephens, B. S. Smith, and K. Smith. (2002) A randomized, comparative pilot study of azithromycin versus benzathine penicillin G for treatment of early syphilis. *Sex. Transm. Dis.* **29**:486–490.
63. Hopkins, S., Lyons, F., Coleman, C., Courtney, G., Bergin, C., Mulcahy, F. (2004) Resurgence in infectious syphilis in Ireland: an epidemiological study. *Sexually transmitted diseases*, **31**: 317-321.
64. Hourihan, M., Wheeler, H., Houghton, R., Goh, B.T. (2004) Lessons from the syphilis outbreak in homosexual men in east London. *Sexuall Transm. Infect.*, **80**: 509-511.
65. Hunter, E. F. (1990) Fluorescent treponemal antibody-absorption double staining (FTA-ABS DS) test, p. 141–152. In Larsen, S. A., Hunter, E. F., Kraus, S. J. (ed.), A manual of tests for syphilis, **8th ed.** *American Public Health Association, Washington, D.C.*
66. Hunter, E. F., Greer, P. W., Swisher, B. L., Simons, A. R., Farshy, C. E., Crawford, J., Sulzer. K. R. (1984) Immunofluorescent staining of *Treponema* in tissues fixed with formalin. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **108**:878–880.
67. Hunter, E. F., McKenney, R. M., Maddison, S. E., Cruce D. D. (1979) Double-staining procedure for the fluorescent treponemal antibody-absorption (FTA-ABS) test. *Br. J. Vener. Dis.* **55**:105–108.

68. Hutchinson, C. M., Hook III, E. W., Shepherd, M., Verley, J., Rompalo, A. M. (1994) Altered clinical presentation of early syphilis in patients with human immunodeficiency virus infection. *Ann. Intern. Med.* **121**: 94-100.
69. Ijsselmuiden, O. E., J. J. van der Sluis, A. Mulder, E. Stolz, K. P. Bolton, and R. V. W. van Eijk. 1989. An IgM capture enzyme-linked immunosorbent assay to detect IgM antibodies to treponemes in patients with syphilis. *Genitourin. Med.* **65**:79–83.
70. Ingraham, N. R., Jr. (1951) Section II. Syphilis in pregnancy and congenital syphilis. *Acta Dermatovenerologia* **31** (Suppl. 24):60–88.
71. Ito, F., R. W. George, E. F. Hunter, S. A. Larsen, and V. Pope (1992) Specific immunofluorescent staining of pathogenic treponemes with a monoclonal antibody. *J. Clin. Microbiol.* **30**:831–838.
72. Ito, F., E. F. Hunter, R. W. George, B. L. Swisher, and S. A. Larsen. (1991) Specific immunofluorescence staining of *Treponema pallidum* in smears and tissues. *J. Clin. Microbiol.* **29**:444–448.
73. Jepsen, O. B., Hougen, K. H., Birch-Andersen, A. (1968) Electron microscopy of *Treponema pallidum* Nichols. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* **74**: 241-258.
74. Kellogg, D. S., Jr. (1970) The detection of *Treponema pallidum* by a rapid, direct fluorescent antibody darkfield (DFATP) procedure. *Health Lab. Sci.* **7**:34–41.
75. Kellogg, D. S., Jr., and Mothershed, S. M. (1969) Immunofluorescent detection of *Treponema pallidum*: a review. *JAMA* **107**:938–941.
76. Kennedy, E. J., Jr. (1990) Microhemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum* (MHA-TP), p. 153–166. In S. A. Larsen, E. F. Hunter, and S. J. Kraus (ed.), *A manual of tests for syphilis*, 8th ed. American Public

Health Association, Washington, D.C.

77. Knight, C. S., Crum, M. A., Hardy, R. W. (2007) Evaluation of the LIAISON Chemiluminescence immunoassay for diagnosis of syphilis. *Clinical and Vaccine Immunology*, **14** (6), 710-713.
78. Larsen, S. A., Steiner, B. M., Rudolph, A. H. (1995) Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis. *Clin Micro Reviews*, Vol. **8**, No.1, p. 1-21.
79. Lautenschlager, S. (2005) Sexually transmitted diseases in Switzerland: return of the classics. *Dermatology*, **210**:134-142.
80. Leader, B. T., Hevner, K., Molini, B. J., Barrett, L. K., Van Voorhis, W. C. Lukehart, S. A. (2003) Antibody responses elicited against the *Treponema pallidum* repeat proteins differ during infection with different isolates of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. *Infect. Immun.* **71**: 6054-6057.
81. Lee, K. H., Choi, H. J., Lee, M. G., Lee, J. B. (2000) Virulent *Treponema pallidum* 47 kDa antigen regulates the expression of cell adhesion molecules and binding of T-lymphocytes to cultured human dermal microvascular endothelial cells. *Yonsei Med. J.*, **41**: 623-633.
82. Lee, R.V., Thornton, G.F., Conn, H.O. (1971) Liver disease associated with secondary syphilis. *N. Engl. J. Med.* **284**: 1423-1425.
83. Lefe`vre, J. C., Bertrand, M.A., Bauriaud, R. (1990) Evaluation of the Captia enzyme immunoassays for detection of immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* in syphilis. *J. Clin. Microbiol.* **28**:1704–1707.
84. Lien, E., Sellati, T. J., Yoshimura, A., Flo, T. H., Rawadi, G., Finberg, R. W., Carroll, J. D., Espevik, P., Ingalls, R. R., Radolf, J. D., Golenbock, D. T. (1999) Toll-like receptor 2 functions as a pattern recognition receptor for diverse bacterial products. *J. Biol. Chem.* **274**: 33419-33425.

85. Lukehart, S. A., Baker-Zander, S. A., Sell, S. (1986) Characterization of the humoral immune response of the rabbit to antigens of *Treponema pallidum* after experimental infection and therapy. *Sex. Transm. Dis.* **13**: 9-15.
86. Lukehart, S. A., Baker-Zander, S. A., Lloyd, R. M., Sell, S. (1980) Characterization of lymphocyte responsiveness in early experimental syphilis. In vitro response to mitogens and *Treponema pallidum* antigens. *J. Immunol.* **124**: 454-460.
87. Lukehart, S. A., Godornes, C., Molini, B. J., Sonnett, P., Hopkins, S., Mulcahy, F., Engelman, J., Mitchell, S. J., Rompalo, A. M., Marra, C. M., Klausner, J. D. (2004) Macrolide resistance in *Treponema pallidum* in the United States and Ireland. *N. Engl. J. Med.* **351**:154–158.
88. Magnuson, H. J., Eagle, H., Fleishmann, R. (1948). The minimal infectious inoculum of *Spirochaeta pallida* (Nichols strain), and a consideration of its rate of multiplication in vivo. *Am. J. Syph. Gonorrhea Vener. Dis.* **32**: 1-18.
89. Mahoney, J. F., Bryant, K. K. (1934) The time element in the penetration of the genital mucosa of the rabbit by the *Treponema pallidum*. *Vener. Dis. Inf.* **15**: 1-5.
90. McBroom, R. L., Styles, A. R., Chiu, M. J., Clegg, C., Cockerell, C. J., Radolf, J. D. (1999) Secondary syphilis in persons infected with and not infected with HIV-1: a comparative immunohistologic study. *Am. J. Dermatopathol.* **21**: 432-441.
91. McKevitt, M., Patel, K., Smajs, D., Marsh, M., McLoughlin, M., Norris, S. J., Weinstock, G. M., Palzkill, T. (2003) Systematic cloning of *Treponema pallidum* open reading frames for protein expression and antigen discovery. *Genome Res.* **13**: 1665-1674.

92. Meyer, M. P., Eddy, T., Baughn, R.E. (1994) Analysis of Western blotting (immunoblotting) technique in diagnosis of congenital syphilis. *J. Clin. Microbiol.* **32**:629–633.
93. Miltiņš, A. (1999) Veneroloģija. Klīniskajā dermatoveneroloģijā, Vasariņš P., Miltiņš A., Zvaigzne ABC, Rīga, lpp.372-391.
94. Mindel, A., Tovey, S.J., Timmins, D.J., Williams, P. (1989). Primary and secondary syphilis, 20 years experience. Clinical features. *Genitourin. Med.* **65**: 1-3.
95. Molepo, J., Pillay, A., Weber, B., Morse, S. A., Hoosen, A. A. (2007). Molecular typing of *Treponema pallidum* strains from patients with neurosyphilis in Pretoria, South Africa. *Sex. Transm. Infect.* **83**:189-192.
96. Moore, M.B. Jr., Price, E.V., Knox, J. M., Elgin, L., W. (1963) Epidemiological treatment of contacts to infectious syphilis. *Public Health Rep.*, **78**: 966-970.
97. Moyer, N. P., Hudson, J. D., Hausler, W. J. Jr. (1987) Evaluation of the Bio-EnzaBead Test for syphilis. *J. Clin. Microbiol.* **25**:619–623.
98. Muller, F., Oelerich, S. (1981) *Treponema*-specific and antilipoidal 19S (IgM) antibodies in penicillin-treated and untreated rabbits after infection with *Treponema pallidum*. *Br. J. Vener. Dis.* **57**: 15-19.
99. Muller, I., Brade, V., Hagedorn, H., Straube, E., Schorner, C., Frosch, M., Hlobil, H., Stanek, G., Hunfeld, K. (2006) Is Serological Testing a Reliable Tool in Laboratory Diagnostics of Syphilis? Meta-Analysis of Eight External Quality Control Surveys Performed by the German Infection Serology Proficiency Testing Program. *Journal of Clinical Microbiology*, **44**(4), 1335-1341.

100. Mullick, C.J., Liappis, A.P., Benator, D.A., Roberts, A.D., Parenti, D.M. Simon, G.L. (2004) Syphilis hepatitis in HIV-infected patients: a report of 7 cases and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* **39**: 100-105.
101. Musher, D. M., Hague-Park, M., Gyorkey, F., Anderson, D. C., Baughn, R. E. (1983) The interaction between *Treponema pallidum* and human polymorphonuclear leukocytes. *J. Infect. Dis.* **147**: 77-86.
102. Naaber, P., Uuskula, A., Naaber, J., Poder, A., Hjelm, E., Hallen, A., Unemo, M., and Domeika, M. (2005) Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections in Estonia in 2001-2002: Shortcomings with impact on diagnostic quality and surveillance. *Sexually transmitted diseases*, **32 (12)**, 759-764.
103. Nichols, J. C., and Baseman, J. B. (1975) Carbon sources utilized by virulent *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.* **12**: 1044-1050.
104. Norgard, M. V. (1993) Clinical and diagnostic issues of acquired and congenital syphilis encompassed in the current syphilis epidemic. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **6**:9-16.
105. Norris, S. J. (1982) In vitro cultivation of *Treponema pallidum*: independent confirmation. *Infect. Immun.* **36**: 437-439.
106. Norris, S., J., Cox, D., L., Weinstock, G., M. (2001) Biology of *Treponema pallidum*: Correlation of Functional Activities With Genome Sequence Data. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **3 (1)**: 37-62.
107. O'Regan, A.W., Castro, C., Lukehart, S.A., Kasznica, J.M., Rice, P.A., Joyce-Brady, M.F. (2002) Barking up the wrong one? Use of polymerase chain reaction to diagnose syphilitic aortitis. *Thorax* **57**: 917-918.

108. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Dērviece, A., Pakalne, V., Žileviča, A. (2006) Diagnostics of syphilis: evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay of IgG and IgM in comparison with other methods of serological diagnostics. *Proceedings of the Latvian Academy of science*, **4(645)**, 127-132.
109. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Mikažāns, I., Paegle, D., Ančupāne, I., Žileviča, A. (2008) Optimised routines for monitoring of treated late latent syphilis patients. *Proceedings of the Latvian Academy of science*, **6(659)**, 20-30.
110. Ozolins, D., Hartmane, I., Pakalne, V., Zilevica, A. (2006). Comparison of syphilis serological tests. *Laboratorine MEDICINA*, Vilnius, **1(29)**, 38.
111. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Žileviča (2007) Sifilisa seroloģisko diagnostikas metožu salīdzinājums. *Latvijas universitātes raksti*, Rīga, Latvijas Universitāte, **712.** sēj., 133.-141.lpp.
112. Ozoliņš, D., Hartmane, I., Žileviča, A. (2006) Treponema pallidum immobilisation test in diagnostics of syphilis. *Proceeding of the 19th International symposium bioprocess systems*, III, 57-64.
113. Pankratov, O., Saluk, Y., Klimova, L. (2006) Epidemiology of syphilis in pregnant women and congenital syphilis in Belarus. *Acta Dermatoven APA*, **15(1)**, 35 – 38.
114. Patrick, D., Romanowski, B., Health, A., Mensah, M. (1998) Canadian STD guidelines. *Public Health Agency of Canada*, Toronto, pp.279.

115. Pedersen, N. S., Orum, O., Mouritsen, S. (1987) Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to venereal disease research laboratory (VDRL) antigen in syphilis. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1711–1716.
116. Pedersen, N. S., Petersen, C. S., Vejtorp, M., Axelsen, N. H. (1982) Serodiagnosis of syphilis by an enzyme-linked immunosorbent assay for IgG antibodies against the Reiter treponema flagellum. *Scand. J. Immunol.* **15**:341–348.
117. Penn, C. W. (1981) Avoidance of host defences by *Treponema pallidum* in situ and on extraction from infected rabbit testes. *J. Gen. Microbiol.* **126**: 69-75.
118. Pettit, E., Larsen, S. A., Harbec, P. S., Feeley, C., Parham, C. E., Cruce, D. D., Hambie, E. A., Perryman, M. W. (1983). Toluidine Red Unheated Serum Test, a Nontreponemal Test for Syphilis. *Journal of Clin. Microbiol.* p. Vol. **18**, No. 5: 1141-1145.
119. Pillay, A., Liu, H., Chen, C. Y., Holloway, B., Sturm, A. W., Steiner, B., Morse, S. A. (1998). Molecular subtyping of *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*. *Sex. Transm. Dis.* **25**:408-414.
120. Pillay, A., Liu, H., Ebrahim, S., Chen, C. Y., Lai, W., Fehler, G., Ballard, R. Steiner, B, Sturm, A. W., Morse, S. A.. (2002). Molecular typing of *Treponema pallidum* in South Africa: cross-sectional studies. *J. Clin. Microbiol.* **40**:256-258.
121. Podwinska, J., Lusiak, M., Zaba, R., Bowszyc, J. (2000) The pattern and level of cytokines secreted by Th1 and Th2 lymphocytes of syphilitic

- patients correlate to the progression of the disease. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*, **28(1)**,1-14.
122. Pope, V., Fox, K., Liu, H., Marfin, A. A., Leone, P., Seña, A. C., Chapin, J., Fears, M. B., Markowitz, L. (2005). Molecular subtyping of *Treponema pallidum* from North and South Carolina. *J. Clin. Microbiol.* **43**:3743-3746.
123. Porcella, S. F. and Schwan, T. G. (2001) *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum*: a comparison of functional genomics, environmental adaptations and pathogenic mechanisms. *J. Clin. Invest*, **107 (6)**, pp. 651-656.
124. Radolf, J. D., Moomaw, C., Slaughter, C. A., Norgard, M. V. (1989) Penicillin-binding proteins and peptidoglycan of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. *Infect. Immun.* **57**:1248–1254.
125. Rathlev, T. (1967) Haemagglutination test utilizing pathogenic *Treponema pallidum* for the serodiagnosis of syphilis. *Br. J. Vener. Dis.* **43**:181–185.
126. Rekart, M. L., D. M. Patrick, B. Chakraborty, J. J. Maginley, H. D. Jones, C. D. Bajdik, B. Pourbohloul, and R. C. Brunham. 2003. Targeted mass treatment for syphilis with oral azithromycin. *Lancet* **361**:313–314.
127. Riley, B. S., Oppenheimer-Marks, N., Hansen, E. J., Radolf, J. D., Norgard, M. V. (1992) Virulent *Treponema pallidum* activates human vascular endothelial cells. *J. Infect. Dis.* **165**: 484-493.
128. Rompalo, A.M., Joesoef, M., R., O'Donnelli, J.A., Augenbraun, M., Brady, W., Radolf, J.D., Johnson, R., Rolfs, R.T. (2001) Clinical manifestations of early syphilis by HIV status and gender: results of the syphilis and HIV study. *Sex. Transm. Dis.* **28**: 158-165.

129. Routhschild, B.M. (2005) History of Syphilis. *Clin. Infect. Dis.* **40**: 1454-1463.
130. Rothschild, B.M., Rothschild, C. (1996) Treponemal disease in the New World: a tale of two seeds. *Curr. Anthropol.* **37**: 555–61.
131. Rothschild, B.M., Rothschild, C., Hill, M.C. (1995) Origin and transition of varieties of treponemal disease in the NewWorld. *Amer J Phys Anthropol* **36(Suppl 20)**:185.
132. Sanchez, P. J., McCracken, G. H., Wendel, G. D., Olsen, K., Threlkeld, N., Norgard, M. V. (1989) Molecular analysis of the fetal IgM response to *Treponema pallidum* antigen: implications for improved serodiagnosis of congenital syphilis. *J. Infect. Dis.* **159**:508–517.
133. Sartakova, M., Dobrikova, E., Cabello, F. C. (2000) Development of an extrachromosomal cloning vector system for use in *Borrelia burgdorferi*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**: 4850-4855.
134. Schaudinn, F., and P. Hoffmann (1904–1905) Vorlaufiger Bericht uber das Vorkommen von Spirochäten in syphilitischen Krankheitprodukten und bei Papillomen. *Arb. Gesundheitsamt.* (Berlin) **22**:527–534.
135. Schiller, N. L., and Cox, C. D. (1977) Catabolism of glucose and fatty acids by virulent *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.* **16**: 60-68.
136. Schroeter, A.L., Turner, R.H., Lucas, J., B., Brown, W., J. (1971) Therapy for incubating syphilis. Effectiveness of gonorrhea treatment. *JAMA*, **218**: 711-713.
137. Sell, S., Baker-Zander, S., Powell, H. C. (1982) Experimental syphilitic orchitis in rabbits: ultrastructural appearance of *Treponema pallidum*

- during phagocytosis and dissolution by macrophages in vivo. *Lab. Investig.* **46**: 355-364.
138. Sell, S. Salman, J., Norris, S. J. (1985) Reinfection of chancre-immune rabbits with *Treponema pallidum*. in light and immunofluorescence studies. *Am. J. Pathol.* **118**: 248-255.
139. Sellati, T. J., Bouis, D. A., Caimano, M. J., Feulner, J. A., Ayers, C., Lien, E., Radolg, J. D. (1999) Activation of human monocytic cells by *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum* is facilitated by CD14 and correlates with surface exposure of spirhetal lipoproteins. *The journal of Immunology*, **163**, 2049-2056.
140. Sellati, T. J., Bouis, D. A., Kitchens, R. L., Darveau, R. P., Pugin, J., Ulevitch, R. J., Gangloff, S. C., Goyert, S. M., Norgard, M. V. and Radolf J. D. (2002) *Treponema pallidum* and *Borelia burgdorferi* lipoproteins and synthetic lipopetids activate monocytic cells via a CD14-dependent pathway distinct from that used by lipopolysaccharide. *The journal of Immunology*, **160**, 5455-5464.
141. Sellati, T. J., Waldrop, S. L., Salazar, J. C., Berstresser, P. R., Picker, L. J. and Radolf J. D. (2001) The cutaneous response in humans to *Treponema pallidum* lipoprotein analogues involves cellular elements of both innate and adaptive immunity. *The journal of Immunology*, **166**, 4131-4140.
142. Sieling, P. A., Chung, W., Duong, B. T., Godowski, P. J., Modlin, R. L. (2003) Toll-like receptor 2 ligands as adjuvants for human Th1 responses. *J. Immunol.* **170**: 194-200.
143. Simms, I., Fenton, K.A., Ashton, M., Turner, K.M., Crawley-Boevey, E.E., Gorton, R., Thomas, D.R., Lynch, A., Winter, A., Fisher, J.M., Lighton,

- L., Maguire, H.C., Solomou, M. (2005) The re-emergency of syphilis in the United Kingdom: the new epidemic phases. *Sexually transmitted diseases*, **32**: 220-226.
144. Smith, M.B., Hayden, R. T., Persing, D. H., Woods, G. L. (2001) Spirochete infections. In: Clinical diagnosis and management by laboratory methods, Henry J. B. Saunders company, Philadelphia, London, New York, St. Louis, Sydney, Toronto, pp. 1131-1144.
145. Sohaskey, C. D., Arnold, C., Barbour, A. G. (1997) Analysis of promoters in *Borrelia burgdorferi* by use of transiently expressed reporter gene. *J. Bacteriol.* **179**: 6837-6842.
146. Sokolovsky, E., Frigo, N., Rotanov, S., Savicheva, A., Dolia, O., Hallen, A., Unemo, M., Domeika, M., Ballard, R. (2007) Guidelines for the laboratory diagnosis of syphilis in East-European countries. *Sexual and Reproductive Health (SRH) Network*, 1-37.
147. Stamm, L. V., and H. L. Bergen. (2000) A point mutation associated with bacterial macrolide resistance is present in both 23S rRNA genes of an erythromycin-resistant *Treponema pallidum* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**:806–807.
148. Stamm, W.E., Handsfield, H.H., Rompalo, A.M., Ashley, R.L., Roberts, P.L., Corey, L. (1988). The association between genital ulcer disease and acquisition of HIV infection in homosexual men. *JAMA*, **260**: 1429-1433.
149. Stokes, J.H., Beerman, H., Ingraham, N.R. (1944) Modern clinical syphilology. *The W.B. Saunders Co*, Philadelphia, Pa.
150. Sutton, M. Y., Liu, H., Steiner, B., Pillay, A., Mickey, T., Finelli, L., Morse, S., Markowitz, L. E., Louis, M. E. St. (2001). Molecular subtyping of

- Treponema pallidum* in an Arizona County with increasing syphilis morbidity: use of specimens from ulcers and blood. *J. Infect. Dis.* **183**:1601-1606.
151. Thomas, D. D., Navab, M., Haake, D. A., Fogelman, A. M., Miller, J. N., Lovett, M. A. (1988) *Treponema pallidum* invades intercellular junctions of endothelial cell monolayers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**: 3608-3612.
152. Tight, R. R., Perkins, R. L. (1976) *Treponema pallidum* infection in subcutaneous polyethylene chambers in rabbits. *Infect. Immun.* **13**: 1606-1612.
153. Tomizawa, T., and Kasamatsu, S. (1966) Hemagglutination tests for diagnosis of syphilis. A preliminary report. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* **19**:305–308.
154. Tourville, D.R., Byrd, L.H., Kim, D.U., Zajd, D., Lee, I., Reichmann, L.B., Baskin, S. (1976) Treponemal antigen in immunopathogenesis of syphilitic glomerulonephritis. *Am. J. Pathol.* **82**: 479-492.
155. Turner, T. B., Hollander, D. H. (1957) Biology of the treponematoses. *World Health Organization, Geneva, Switzerland.*
156. U.S. Department of Health, Education and Welfare. (1968) Syphilis – a synopsis. *Center for Disease Control, Atlanta, Ga.*
157. Vagoras, A., Butylkina, R., Juseviciute, V., Hallen, A., Unemo, M., Domeika M. (2006) Diagnosis of non-viral sexually transmitted infections in Lithuania and international recommendations. *Euro Surveill*, **11(7)**, 161-4.
158. Van der Bij, A.K., Stolte, I.G., Coutinho, R.A., Dukers, N.H. (2005) Increase of sexually transmitted infections, but no HIV, among young homosexual men in Amsterdam: are STIs still reliable markers for HIV transmission? *Sexuall Transm. Infect.*, **81**: 34-37.

159. Veldekamp, J., and Visser, A.M. (1975) Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of syphilis. *Br. J. Vener. Dis.* **51**:227–231.
160. Watson-Jones, D., Chagalucha, J., Gumodoka, B., Weiss, H., Rusizoka, M., Ndeki, L., Whithouse, A., Balira, R., Todd, J., Ngeleja, D., Ross, D., Buve, A., Hayes, R., Mabey, D. (2002) Syphilis in pregnancy in Tanzania. Impact of maternal syphilis on outcome of pregnancy. *J. Infect. Dis.* **186**: 940-947.
161. Weigel, L. M., J. D. Radolf, and M. V. Norgard. (1994) The 47-kDa major lipoprotein immunogen of *Treponema pallidum* is a penicillin-binding protein with carboxypeptidase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**:11611–11615.
162. Wenhai, L., Jianzhong, Z., Cao, Y. (2004) Detection of *Treponema pallidum* in skin lesions of secondary syphilis and characterization of the inflammatory infiltrate. *Dermatology* **208**: 94-97.
163. Wesley, C.V., Barrett, L. K., Lukehart, S. A., Schmidt, B., Schriefer, M. and Cameron C. E. (2003) Serodiagnosis of syphilis: Antibodies to recombinant Tp0453, Tp92 and Gpd proteins are sensitive and specific indicators of infection by *Treponema pallidum*. *Journal of Clinical Microbiology*, **41**(8), 3668-3674.
164. Workovski, A., Berman, M. (2004) National Surveillance Data for Chlamydia, Gonorrhea and Syphilis. *STD Surveillance 2004*, 1-7.
165. Woznicova, V., Valisova, Z. (2007). Performance of CAPTIA SelectSyph-G Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in syphilis testing of a high-risk population: analysis of discordant results. *Journal of Clinical Microbiology*, **45** (6), 1794-1797.

166. Zenker, P. N., and S. M. Berman (1990) Congenital syphilis: reporting and reality. *Am. J. Public Health* **80**:271–272.
167. Zobkoucko, H., Polanecka, V., Kastonkova, V. (2004). Syphilis and gonorrhoea in the Czech Republic. *Euro Surveill*, **9(12)**, 18-20.