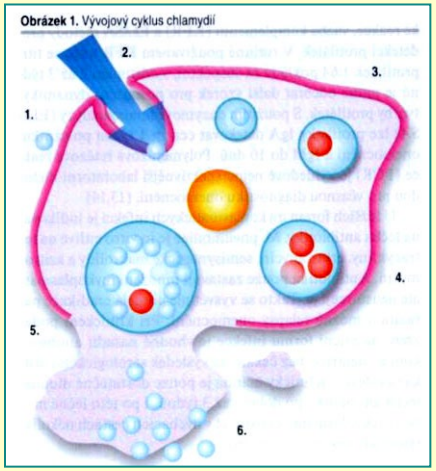
Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

Mašková, Bílková Fránková, Doležílková
Oddělení parazitologie a klinické zoologie ZÚ Ostrava

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

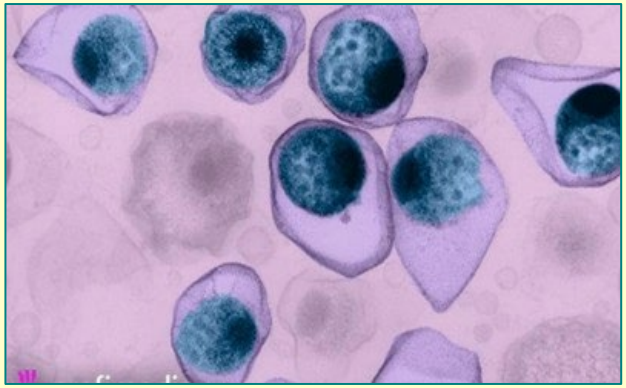
- Chlamydie jsou nepohyblivé **gram- negativní bakterie**
- Jedná se o obligátní intacelulární parazity ,kteří jsou metabolicky závislí na ATP /adenosintrifosfátu/ hostitelské buňky - **energetičtí parazité**
- **Unikátní dvoufázový vývojový cyklus** - k infekci dochází tak, že metabolicky neaktivní elementární tělísko /**EB**/ přichytí na povrchu hostitelské buňky a následně je fagocytováno. Po té se elementární tělíska přemění v metabolicky aktivní retikulární tělíska /**RB**/, a ta se začnou dělit. Po 48 až 72 hodinách hostitelská buňka praskne a dojde k uvolnění infekčních elementárních tělísek.



Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

- Chlamydie jsou významnými patogeny dýchacího ústrojí, urogenitálního traktu a oka
- Taxonomie

Čeleď : *Chlamydiaceae*
Rod : *Chlamydia*
Druh : ***Ch.trachomatis***
Ch.muridarum
Ch.suis
Rod : *Chlamydophila*
Druh : ***Ch. pneumoniae***
Ch.pecorum
Ch.psittaci
Ch.abortus
Ch.caviae
Ch. felis



Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

Klinicky významné chlamydie :

- ***Chlamydophila psittaci***
  antropozoónoza
  u člověka psitakóza (po vdechnutí kontaminovaného prachu) – atypická pneumonie,
  hepatitida, myokarditida,placentitida
  podléhá povinnému hlášení
  v ČR pouze jako importovaná nákaza

- ***Chlamydia trachomatis***
  onemocnění: klasický oční trachom /sérotypy A,B,Ba,C/ - již i v ČR
  lymphogranuloma venereum / L1-L3 /
  okulogenitální a urogenitální nemoci dospělých / D-K, B,Ba /
  perinatální infekce

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

- ***Chlamydophila pneumoniae***
  druhá nejčastější příčina komunitně získané pneumonie
  vysoká seropozitivita populace až 80%
  většina respiračních infekcí má lehký průběh nebo zcela asymptomatická
  šíření se kapénkovou infekcí, přímý kontakt
  k primoinfekci dochází obvykle mezi 5.-18.rokem věku
  v poslední době zkoumán vztah k jiným onemocněním :
    reaktivní artritida
    arterioskleroza
    onemocnění CNS atd.

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

Přímá laboratorní diagnostika - průkaz antigenu Ch.trachomatis

- ***Hybridizace DNA - genová sonda***
  stanovení DNA Ch. trachomatis
  reakce je založena na hybridizaci DNA ze vzorků se směsí Chlamydia specifických RNA sond
  vyšetření provádíme z výtěru z uretry, z cervixu, ze spojivkového vaku

- ***Metoda PCR***
  průkaz přítomnosti DNA Ch. trachomatis pomocí enzymatického zmnožení primery definovaného úseku nukleové kyseliny in vitro
  vyšetření provádíme z moči,výtěrů,stěr ze spojivky

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

Nepřímé vyšetřovací metody - průkaz protilátek

- **MIF mikroimunofluorescenční test**
  průkaz protilátek anti *Ch.psittaci* IgA, IgM, IgG
  vyšetření ze séra, odběr srážlivé krve
  doporučeno vždy sledovat dynamiku titru
- **ELISA test**
  stanovení protilátek proti chlamydiím v séru
  Chlamydia rod. sp. IgA, IgG, IgM
  Chlamydophila pneumoniae IgA, IgG, IgM
  Chlamydia trachomatis IgA, IgG
- **Immunoblot**
  stanovení protilátek pro jednotlivým separovaným antigenům - konfirmační test
  Chlamydophila pneumoniae IgA, IgG, IgM
  Chlamydia trachomatis IgA, IgG
  Chlamydophila psittaci IgA, IgG

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

ELISA = průkaz protilátek proti:

- **rodově** specifickému termostabilnímu lipopolysacharidu (**LPS**)

Diagnostika Chlamydien IgA,IgM,IgG

tvorba specifických protilátek u chlamydiových infekcí opožděná
nejprve tvorba protilátek proti LPS / nástup protilátek mezi 5.-20.dnem od začátku onemocnění, pak tvorba proti MOMP /
diagnostika počátečního stadia infekce
při akutních infekcích může být serologický obraz negativní, i když klinika mluví ve prospěch infekce – doporučuje vyšetření opakovat po 10-14 dnech
u dětí do 2 let nedostatečná tvorba / nevyzrálost B-Lymfocytů/
možný výskyt pozitivních IgM způsobený nespecifickou polyklonální aktivací B- lymfocytů, proto vhodné vždy vyšetření doplnit o protilátky proti MOMP dle kliniky
křížové reakce s protilátkami proti parvoviru B19 nelze vyloučit
v jednotlivých případech mohou IgA perzistovat / u bakt. a vir. onem./

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

ELISA = průkaz protilátek proti:

druhově specifickým antigenům **MOMP** (MajorOuterMembraneProteins)

Diagnostika Chlamydia pneumoniae IgA,IgM,IgG

diagnostika *Ch. pneumoniae* se opírá zvláště o serologická vyšetření

MOMP antigeny jsou proteinové povahy

tvorba druhově specifických protilátek nastupuje později, po protilátkám proti LPS

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

IgM

- typické pro začátek infektu / 10.-14.den/
- pokud bez současné pozitivity IgA a IgG, tak považujeme za **primoinfekci**

IgA

- se vytvářejí později
- lze je považovat za ukazatel **aktivní infekce,** často **reinfekce**
- mohou vymizet za několik měsíců
- u některých jedinců zůstávají dlouhodobě pozitivní, i když se nejedná o aktivní infekci či reinfekci

IgG

- samotná pozitivita bez známek onemocnění je považována za **prodělanou infekci**
- za známky infekce můžeme považovat buď čtyřnásobný vzestup protilátek IgG po 3 týdnech, nebo v samotném odběru velmi vysoký index pozitivity
- protilátky proti chlamydiím mohou dlouhodobě perzistovat /měsíce, roky / a nemusí znamenat aktivní infekci!!!
- hraniční výsledky mohou poukazovat na začínající se nebo odeznívající infekci.Vhodná kontrola po 14 dnech.

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

IgM	IgA	IgG	Hodnocení Ch.pneumoniae
-	-	-	negativní nález / možná falešná negativita v ranné fázi infekce/, v případě klinického podezření opakovat odběr za 14 dní
+	-	-	možná začínající infekce nebo nespecifická reakce, opakovat odběr za 14 dní
+	+	-	pravděpodobná akutní infekce na počátku, opakovat odběr za 14 dní
+	+	+	probíhající akutní infekce nebo stav po proběhlé infekci, opakovat odběr k posouzení dynamiky titrů
-	-	+	pravděpodobně proběhlá infekce, v případě klin.podezření opakovat odběr,signifikantní je výrazný vzrůst IgG
-	+	+	probíhající infekce-reinfekce či reaktivace nebo chronická infekce ,také stav po proběhlé infekci,opakovat odběr a posuzovat dle kliniky
+	-	+	pravděpodobně primoinfekce nebo stav po infekci
-	+	-	možnost časného stadia infekce nebo perzistující protilátky, opakovat odběr za 14 dní

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

ELISA = průkaz protilátek proti:

druhově specifickým antigenům **MOMP** (MajorOuterMembraneProteins)

Diagnostika Chlamydia trachomatis IgA,IgG

u akutních periferních infekcí lze detekovat infekční agens přímými metodami

uplatnění u nediagnostikovaných, neléčených infektů často **chronické manifestace** /kde přímý průkaz není možný /

hodnocení jen ve třídě IgA, IgG / IgM nemá diagnostický přínos/

opět nutno sledovat dynamiku titru

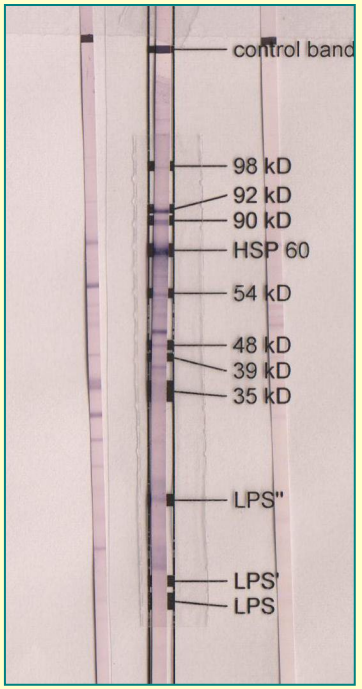
Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

IgG	IgA	Interpretace a doporučení Ch.trachomatis
-	-	bez náznaku infekce ,/možnost časné infekce/, v případě klinického podezření provést přímý průkaz inf.agens , po 10-14 dnech opakovat odběr
+	-	pravděpodobně již prodělaná infekce, v případě klin.podezření opakovat odběr, signifikantní je čtyřnásobný vzrůst titru IgG
+	+/-	možnost právě začínající či doznívající infekce, opakovat test po 10-14 dnech
+	+	akutní infekce / v následném odběru dvojnásobný vzestup signifikantní / nebo chronická infekce s perzistujícím agens / hodnoty zůstávají stejné/
-	+/-	možnost velmi časného stadia, opakovat odběr za 10-14 dní
-	+	možnost časného stadia infekce nebo solitární perzistující protilátky / u bakt.inf./
+/-	-	nelze vyloučit proběhlou infekci, v případě klinického podezření opakovat odběr
+/-	+	možnost časného stadia infekce, opakovat odběr za 10-14 dní

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

Vzhledem k možnosti výskytu zkřížené reakce mezi protilátkami *Ch. trachomatis a Ch. pneumoniae* je vhodné využití metody :

Immunoblot = na nitrocelulózových stripech naneseny jednotlivé separované antigeny



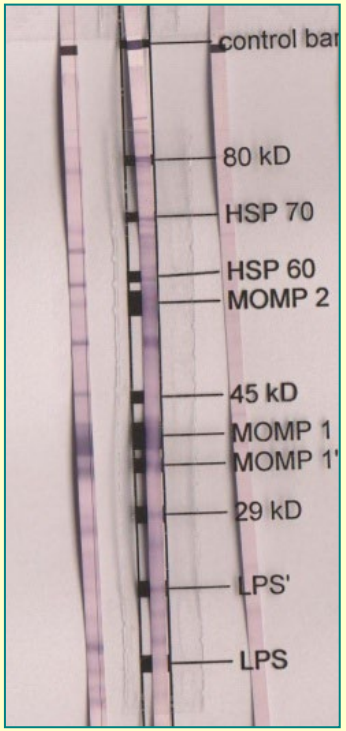
Diagnostika *Chlamydia pneumoniae* IgA,IgM, IgG Immunoblot

- IgA protilátky stanovené blotem mohou naznačovat **chronickou pneumonii**,
- diskutován je vztah s rizikem srdečního infarktu
- protilátky proti antigenům 54kD,35kD a 60kD /HSP/ - vysoké **riziko arteriosklerózy**
- 60kD /HSP/ Heat shock protein-nespecifický,významný pro rozpoznání chron.stadií

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

Diagnostika *Chlamydia trachomatis* IgA, IgG Immunoblot

- test nedetekuje akutní primární infekce !!
- je určen pro **ověření chronických onemocnění**
  /reaktivní arthritida, infertilita,záněty pánve/
- pro chronická onemocnění signifikantní detekce protilátek proti heat sock proteinům
- protilátky proti **HSP 60** často spojeny s **infertilitou a potraty**
- protilátky proti **57kD** často spojeny s **reaktivní arthritidou**



Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

Závěr - diagnostika chlamydií je obecně velmi obtížná
nutnost vybrat vhodnou diagnostickou metodu

- *Ch. trachomatis*: upřednostnění přímého průkazu agens
  serologie až u chronických průběhů
- *Ch. pneumoniae*: serologie hlavní vyšetřovací metodou
  vhodné vždy sledovat dynamiku a výši titrů
- *Ch. psittaci*: ojedinělá indikace pro vyšetření
  v ČR zatím jen importovaná nákaza

Možnosti diagnostiky chlamydiových nákaz

www.zuova.cz

596 200 385, 158