

Sérologická diagnostika chlamydiových infekcí, laboratorní interpretace

Doležilková, Mašková, Vaňková

Oddělení parazitologie a klinické zoologie ZÚ Ostrava

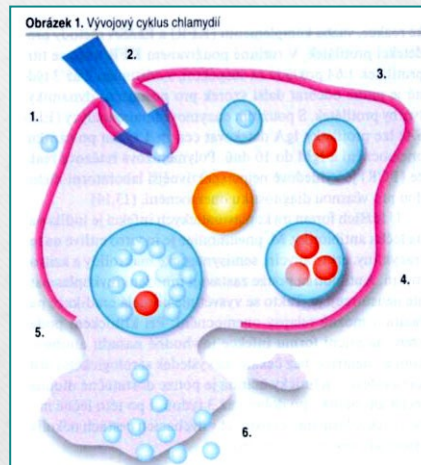


Sérologická diagnostika chlamydiových infekcí, laboratorní interpretace

Chlamydie jsou nepohyblivé **gram- negativní bakterie**

Jedná se o obligátní intacelulární parazity, kteří jsou metabolicky závislí na ATP
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.



Sérologická diagnostika chlamydiových infekcí, laboratorní interpretace

- 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***

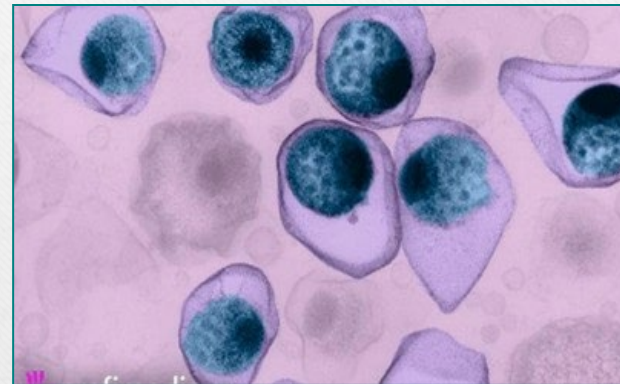
Ch. pecorum

Ch. psittaci

Ch. abortus

Ch. caviae

Ch. felis



Sérologická diagnostika chlamydiových infekcí, laboratorní interpretace

Nepřímé vyšetřovací metody - průkaz protilátek (vyšetření ze séra, odběr srážlivé krve)

- **MIF mikroimunofluorescenční test**
průkaz protilátek anti *Ch.psittaci* IgA, IgM, IgG
- **ELISA test**
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
- **doporučeno vždy sledovat dynamiku**

Sérologická diagnostika chlamydiových infekcí, laboratorní interpretace

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, stěru ze spojivky

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

Způsobuje konjunktivitidu až 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 (konjunktivitidu, pneumonii)

Nejvíce ohrožena populace 15-30 let, rizika neplodnosti a rizikový faktor pro vznik karcinomu děložního hrdla.

Klinicky významné chlamydie

Chlamydomphila pneumoniae

primární afinita k respiračnímu traktu, druhá nejčastější příčina komunitně získané pneumonie

vyšoká 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, reinfekce se obvykle opakují několik let po počáteční expozici

asymptomatické nosičství bez serologického průkazu je možné

v poslední době zkoumán vztah k jiným onemocněním :

reaktivní artritida

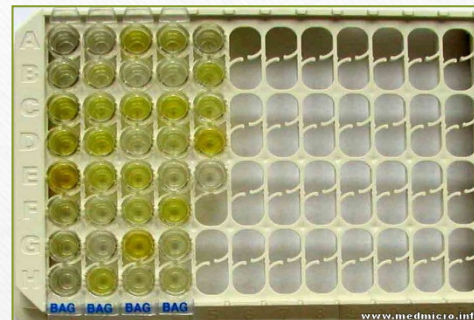
arterioskleroza

onemocnění CNS atd. (astma?, Alzheimer?, RS?, malignity?)

Používané testy sérologické diagnostiky

- ELISA – EUROIMMUN
- WESTERNBLOT – AID diagnostika
- Imunofluorescenční test – Savyon Diagnostics Ltd.
- CHLAMYCHECK – ALL. DIAG. S.A.

ELISA



- **Anti-Chlamydia ELISA IgA, IgG, IgM** (obsahuje kombinaci antigenů jako jsou LPS, OMP a MOMP)
 - Indikace: trachoma, zánět spojivek, urogenitální infekce, lymfogranuloma venereum, laryngitida, sinusitida, bronchitida, pneumonie
- **Anti-Chlamydia pneumoniae ELISA IgA, IgG, IgM**
 - Indikace: respirační onemocnění
- **Anti-Chlamydia trachomatis ELISA IgA, IgG, IgM**
 - Indikace: trachoma, infekce urogenitálního traktu a lymphogranuloma venereum

IMMUNOBLOT CH. pneumoniae (IgA, IgG, IgM)

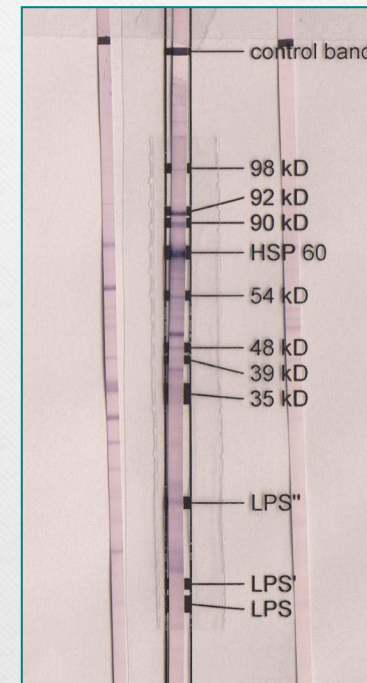
na nitrocelulózových proužcích naneseny jednotlivé separované antigeny

IgA pozitivní blot – možná chronická pneumonie

Diskutováno riziko srdečního infarktu

Pozitivní 54 kD, 35 kD a 60 kD – vysoké riziko arteriosklerózy

60 kD (HSP) – nespecifický, ale významný pro rozpoznání chronických stadií



IMMUNOBLOT CH. trachomatis (IgA, IgG)

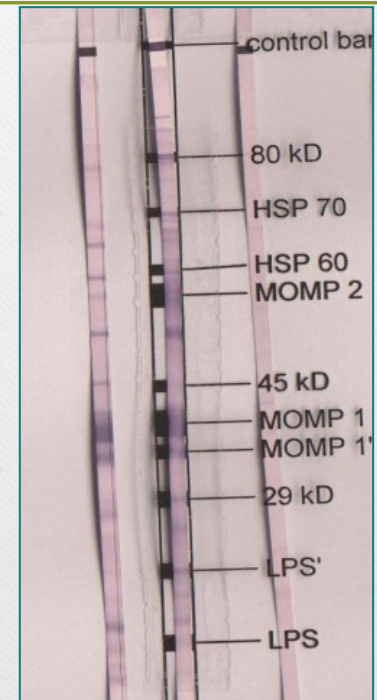
na nitrocelulózových proužcích naneseny jednotlivé separované antigeny

Test nedetekuje akutní primární infekce !!!

Je určen pro ověření chronických onemocnění,
signifikantní je detekce protilátek proti HSP
(reaktivní artritida, infertilita, záněty pánve)

HSP 60 – spojován s infertilitou a aborty

57 kD – spojován s reaktivní artritidou



Chlamydie

Název vyšetření	Výsledek	Hodnocení(meze)
*Chlamydia sp.protilátky IgA ELISA (index)	0,853	hraniční (0,8-1,1)
*Chlamydia sp.protilátky IgG ELISA (index)	2,064	POZITIVNÍ (od 1,1)
*Chlamydia sp.protilátky IgM ELISA (index)	0,141	negativní (do 0,8)
*Ch.pneumoniae protilátky IgA ELISA (index)	1,209	POZITIVNÍ (od 1,1)
*Ch.pneumoniae protilátky IgG ELISA (index)	2,318	POZITIVNÍ (od 1,1)
*Ch.pneumoniae protilátky IgM ELISA (index)	0,045	negativní (do 0,8)
*Ch.pneumoniae protilátky IgA blot	HRANIČNÍ	
98 kDa		POZITIVNÍ
92 kDa		negativní
90 kDa		negativní
HsP 60 kDa		negativní
54 kDa		negativní
48 kDa		negativní
MOMP 39 kDa		negativní
35 kDa		hraniční
LPS		negativní
*Ch.trachomatis protilátky IgA ELISA (index)	0,084	negativní (do 0,8)
*Ch.trachomatis protilátky IgG ELISA (index)	0,099	negativní (do 0,8)
*Ch.trachomatis protilátky IgA blot	NEGATIVNÍ	
80 kDa		negativní
HSP 70		negativní
HSP 60 kDa		negativní
MOMP2		negativní
45 kDa		negativní
MOMP1		negativní
MOMP1*		negativní
29 kDa		negativní
LPS		negativní

Dynamika protilátek

IgM

- typické pro začátek infektu (10.-14.den)
- pokud bez současné positivity IgA a IgG, tak uvažujeme o **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 positivity
- 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.
- **doporučeno vždy sledovat dynamiku**

Interpretace - Ch. pneumoniae

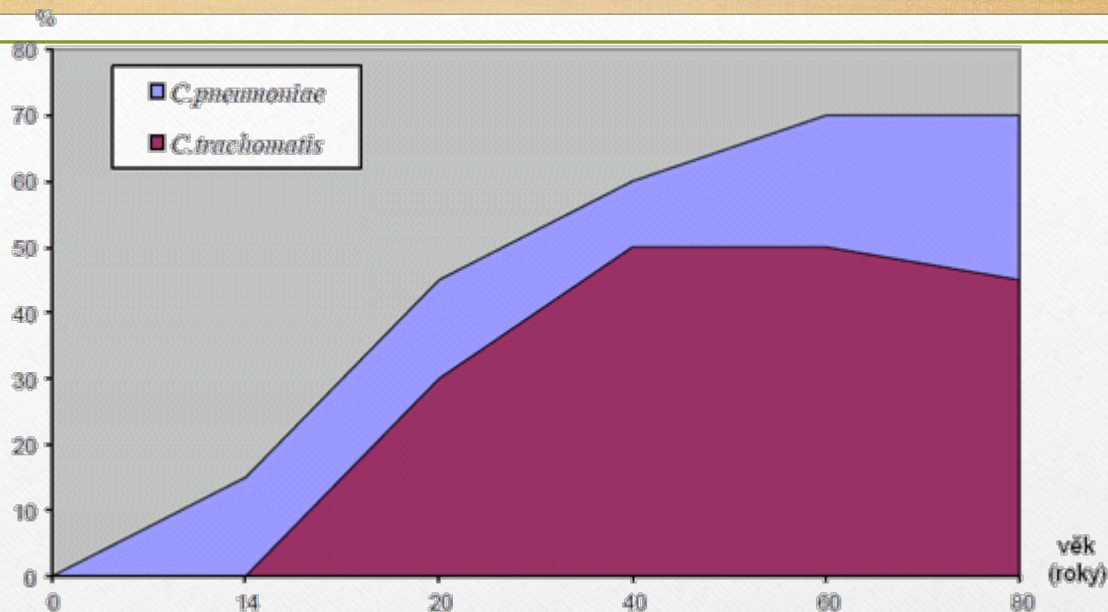
IgM	IgA	IgG	Hodnocení
-	-	-	negativní nález (možná falešná negativita v ranné fázi infekce), v případě klinického podezření opakovat odběr za 14 dní
+	-	-	možná začínající infekce nebo nespecifická reakce, opakovat odběr za 14 dní
+	+	-	pravděpodobná akutní infekce na počátku, opakovat odběr za 14 dní
+	+	+	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

Interpretace - Ch. trachomatis

IgG	IgA	Interpretace
-	-	bez náznaku infekce ,/možnost časně 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

Interpretace - Ch. psittaci

IgM	IgG	IgA	Interpretace
-	-	-	bez náznaku infekce
+	- nebo +	- nebo +	Indikuje probíhající infekci
+	+	-	Indikuje proběhlou nebo současnou infekci
-	+ nebo -	+	Vypovídá o současné nebo chronické infekci



Graf : Výskyt protilátek proti *Chlamydia pneumoniae* a *Chlamydia trachomatis* v populaci v zemích s vyspělou socioekonomickou situací

Terapie: jednotné léčebné schéma neexistuje (makrolidy, tetracykliny, fluorochinolóny II. a III. generace), délka léčby u akutních infekcí 2-3 týdny, u chronických 6-8 týdnů

Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství České lékařské společnosti J. E. Purkyně

MUDr. Jan Galský, Ph.D., MBA

Infekční oddělení Nemocnice Mělník

jan.galsky@seznam.cz

MUDr. Jiřina Hobstová, CSc.

Infekční oddělení FN Motol, Praha

jirina.hobstova@lfmotol.cuni.cz

Závěr

Diagnostika chlamydií je obecně velmi obtížná, nutnost vybrat vhodnou diagnostickou metodu.

Tvorba protilátek opožděna, u rodově specifických nastupuje až za 10 dní od začátku onemocnění, u druhově specifických asi za 2 – 3 týdny.

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

Při jakýchkoli pochybnostech volejte, komunikace s vámi je přínosná i pro nás.

Děkujeme za pozornost 😊



www.zuova.cz

596 200 385, 158