

KULTIVACE GONOKOKŮ Z HORNÍCH CEST DÝCHACÍCH

V.Holec¹, E.Chmelařová¹, R.Vykoukalová², R.Hromádková³ a J.Keřstková¹
¹Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Centrum MPI
²Vítkovická nemocnice Ostrava, kožní ambulance
³Fakultní nemocnice s poliklinikou Ostrava, oddělení kožní



ÚVOD

Gonokoky izolujeme vzácněji i z lokalit mimo urogenitální trakt. Způsobují například faryngitidu a anorektální infekce. Orofaryngitida je pozorována u homosexuálních a bisexuálních mužů a heterosexuálních žen a je získána orogenitálním sexuálním kontaktem s infikovaným partnerem. Občas je pozorována u i heterosexuálních mužů, kteří jsou nakaženi orálními stimulanty infikovaného ženského genitálu. Přes 90% infekcí orofaryngu je asymptomatických a jsou diagnostikovány kultivačně. Odeberá se stěr ze zánětlivých ložisek, v případě bezpriznakového průběhu stěr z tonzil. Anorektální infekce se vyskytuje u homo/bisexuálních mužů praktikujících nechráněný anální styk. Touto cestou se mohou nakazit i ženy, ale většina ženských infekcí rekta je způsobena kontaminací infikovaným cervikovaginálním sekretem. Rektální infekce jsou často symptomatické, 5-7 dnů po infekci vzniká akutní proktitida s anorektální bolestí a svěděním, mukopurulentní výtok, krvácení, tenesmus a zácpa. Výtěr hlenu se provádí z rektálních krypt bez dotyku stolice. Z faryngu a rektálních výtěrů izolujeme řadu morfologicky podobných jiných neisserií a kokovitých moraxel, které musíme správně identifikovat (1,2).

METODIKA

Laboratorní fluorid a STI bakteriologického oddělení Centra MPI zachytily v roce 2004-2005 čtyři kmeny *Neisseria gonorrhoeae* (NEGO) z výtěrů z krku, které byly zasílány cíleně na vyloučení GO. Zároveň byla obvykle vyšetřena kultivačně a genovou sondou (Digene) uretra a kultivačně rektum. Transportní souprava Amiesovo médium (DispoLab), kultivace 72 hodin při 35°C a 6% CO₂ v CO₂ inkubátoru na neselektivním krevním agaru - GC agar báze (Hi Media) s beraní krví + obohacovadlo A (Dulab) a na selektivním krevním agaru - neselektivní KA + obohacovadla B-2 a AMFO (Dulab) + 1% glukóza. U izolátů provedeny testy - barvení dle Grama, cytochromoxidázový test (PLIVA - Lachema), GenoGen II (BD) a API NH (BMX), citlivost k antibiotikům E-testy (AB Biodisk) a průkaz β-laktamázy (Cefinase BD).

KAZUISTIKY

Pacient P1

muž, 19 let, poprvé vyšetřen 11.1.05.
SA: student SPŠ, svobodný, anamnesticky bisexuál (styk jen s muži - orální, anální).
NO: v 12/04 dysurické potíže, žlutavý výtok. Od 8/04 stabilní sex. partner **pacient P3**, nechráněné styky orální, anální. Na urologii 30.12.04, GO sonda pozitivní *N. gonorrhoeae* (6612 RLU), CT sonda negativní.

Výšetření: na urologii *Sumamed* 500 mg 1x1 po 3 dny, dále 4 dny pauza, poté opětovně *Sumamed* ve stejné dávce. Odeslán do kožní ambulance.
Status localis: při kontrolách vždy uretra klidná, dutina ústní klidná, exantém 0, lymfatické uzliny nezvětšeny. Vypsáno hlášení STD.

Výšetření:
 11.01.05 RRR, TPHA, anti-HIV 1+2, antigen p24 ELISA - negativní

11.1.05 stěry na GO kultivaci z hrdla, uretry a rekta negativní, 21.01.2005 negativní,
 31.01.05 uretra a rektum negativní, hrdlo +++ *Neisseria gonorrhoeae* citlivá na azitromycin a tetracyklin a +++ *Neisseria meningitidis* Y,W135.

8.2.05, subj.: ustupující pobolívání v krku. Sex. styk popírá, nové hlášení STD.
Status localis: v obl. tonsil zarudnutí, bez sekrece, LU neuv., genitál 0, rektum 0, exantém 0.
Terapie: *Doxycyline* 100 cps. první den 1-0-1, dále 1x1 (na 9 dní), desinf. kloekadla při bolestech.

Výšetření:
 22.2.05 hrdlo na GO kultivaci negativní, zůstává +++ *N. meningitidis* Y,W135
 10.3.05 hrdlo na GO kultivaci negativní, ++ *N. meningitidis* NA
 18.3.05 hrdlo, uretra a rektum na GO negativní.

Průběh: U pacienta, který docházel k dispenzarizaci do kožní ambulance po přelčení pro gonokokovou uretritidu, byla při pravidelných kontrolách zjištěna gonokoková infekce v oblasti hrdla. Po antibiotické terapii se cítil dobře, potíže ustoupily.
 25.3.05 znovu stížnosti na výtok z uretry, obj. průhledný nehojný výtok z uretry, genová sonda na GO a CT negativní.
 14.7.05 po výrůstky na penis, jinak potíže v mezikožní nebyly žádné. Zjištěna zcela benigní afezoid papilatae coroneae glands - bez nutných opatření.
 RRR,TPHA, anti-HIV 1+2, antigen p24 ELISA po 3 měsících - při negativitě bude vyřazen z evidence STD.

Pacient P2

muž, 28 let, poprvé vyšetřen 2.2.05.
OA: stp. operaci třísněné kýly, sledován na urologické amb. pro hydrokél scrotu.
SA: nezaměstnaný, dříve mechanik, heterosexuál, střídání partnerek, styky nechráněné orální, vaginální, anální, dle sdělení 2 partnerky GO pozitivní, ležily se a docházely na kontroly.
Drogy: před rokem pervitin, nyní již dle sdělení neužívá.

NO: 17.1.05 u prakt. lékaře, *Triprim* 1-0-1 celkem 8 dní pro nachlazení a bolesti v krku. 24.1.05 vyšetřen na urologii pro strangurie trvající 3 dny, výtok žlutozelený. Vyšetření - GO sonda pozitivní *N. gonorrhoeae* (95 929 RLU), CT sonda negativní.

Status localis: na urologii *Ciprolox* 1-0-1 (2 balení), odeslán na kožní amb., hlášení STD.
Status localis: 2.2.05 Obj.: hrdlo klidné, genitál: uretra bez výtoků, v tříšlek bíl. do 0,5 cm nebol. LU bez vřed. léze, exantém 0.

Výšetření:
 11.2.05 uretra kultivačně +++ *N. gonorrhoeae* rezistentní na ciprofloxacín, β-laktamáza negativní, hrdlo kultivačně GO negativní.
 Na kontrole 21.2.05: terapie *Sumamed* 2x500 mg jednorázově. Pac. udával, že byl dne 18.2.05 na pohotovosti pro infekci HCD, dostal *Paralen*, *Mucosolvan*.

10.3.05 se cítil dobře, obj. vše klidné, kontrolní stěry uretra na GO negativní, hrdlo ++ *N. gonorrhoeae* rezistentní na ciprofloxacín, β-laktamáza negativní, citlivá na azitromycin a tetracyklin.

1.3.05 styky popírá, hrdlo se zarudnutí, jinak 0. Nové hlášení STD.
Terapie: *Doxycyline* 100 mg cps. 1-0-1 na 10 dní.

Kontrolní stěry:
 19.4.05 uretra a hrdlo GO negativní
 29.4.05 uretra a hrdlo GO negativní
 9.5.05 uretra a hrdlo GO negativní
Serologie: 11.2.05 RRR, TPHA, anti-HIV 1+2, antigen p24 ELISA - negativní
Průběh: Pacient byl v kožní ambulanci léčený pro gonokokovou uretritidu a následně gonokokovou infekci v oblasti hrdla. Ve stěrech byl pak 3x GO negativní. Subjektivně bez potíží, klinicky bez nálezu. V době docházky do kožní ambulance udával hospitalizaci pro tentamen suicidii. Ke kontrolní serologii za 3 měsíce se zatím nedostavil, proto písemně vyřazen.

Pacient P3

muž, 19 let, poprvé vyšetřen 20.1.05.
SA: student SOU, svobodný, homosexuál.
NO: poprvé STD, pozoroval před třemi týdny bílavý výtok z uretry. Nechráněné orální a anální sex. styky v polovině 12/04 s **pacientem P1**.
Status localis: při 1. vyšetření: uretra bez výtoků, genitál, rektum, dutina ústní bez vředové léze, LU neuv., bez exantému či enantému.
Výšetření 20.01.2005: kultivace na GO - rektum a uretra negativní, hrdlo ++ *Neisseria gonorrhoeae*, GO a CT sonda z uretry negativní.

28.1.05: Subj.: bez bolesti. Obj.: v obl. hrdla: prosáknutí v obl. tonsil, zarudnutí, bíložlutá sekrece, submandibulární LU do1cm.
Terapie: *Doxycyline* 100 mg cps. první den 1-0-1, dále 1x1 (9 dní).
 16.2.2005 anamnesticky udával virózu, teploty do 37,6°, u praktického lékaře dostal *Ambrobene* a *Paralen*. Obj.: v obl.tonsil stále zarudnutí, bíložlutý povlak, LU neuv., ostatní 0.
Výšetření: vzhledem k nálezu jednorázově *Sumamed* 2x500 mg tbl.

Kontrolní stěry:
 16.2.05 hrdlo, rektum a uretra kultivačně na GO negativní
 23.2.05 hrdlo, rektum a uretra kultivačně na GO negativní
 23.2.05 hrdlo, rektum a uretra kultivačně na GO negativní

Serologie: 28.01.05 RRR, TPHA, anti-HIV, antigen p24 ELISA - negativní. Další s časovým odstupem 3 měsíců - pacient se ještě nedostavil. Při negativitě - vyřazení z evidence STD.
Průběh: pacient byl vyšetřován jako sexuální kontakt s gonokokovou infekcí. Pro kultivačně pozitivní a klinicky náleze v hrdle byl přelčený antibiotiky *Doxycyline*. Dále klinicky neobjevený, proto ještě jednorázově *Sumamed*. Ve stěrech však již na GO opakovaně negativní. Klinicky i subj. dále bez potíží. Hlášení STD odesláno.

Pacient P4

muž, 18 let, poprvé vyšetřen 27.10.2004.
SA: student střední školy, bisexuál, svobodný, od 5/04 má stálého přítele. V období 3-5/04 žil promiskuitně, bisexuální styky, za toto období měl asi 12 sex. kontaktů - náhodné styky, i nechráněné.
OA: od 5/04 recidivující anginy, febrilie, zvýšená sedimentace - léčen na ORL ambulanci. Postupně několik typů antibiotik (názyv nezna).

NO: pacient přichází k vyšetření - u jeho přítele byla diagnostikována uretrální gonorrhoea. Sám pacient udává asi 3 týdny trvající bílavý výtok z rekta a posledních 5 měsíců častější průjmy. Před 3 týdny byly také febrilie kolem 40° z zimnice. Posledních 5 měsíců má údajně také recidivující anginy, opakovaně byl léčen antibiotiky, poslední dostával před 3 týdny.

Status localis: genitál - ústí uretry a glans penis bez patologie, bez výtoků. Anus - bpn. Hrdlo - obločky a tonsily syč červené, nepovleklé. Regionál. LU neuv. Subj. občas bílavý výtok z konečníku, bolesti v krku. Dysurické potíže nejsou.

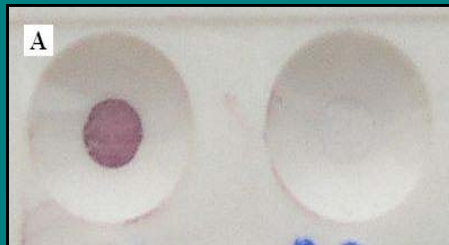
Výšetření:
 27.10.2004 kultivačně uretra +++ *N. gonorrhoeae*, + *S. agalactiae*, rektum +++ *N. gonorrhoeae*, krk +++ *N. gonorrhoeae*, uretra GO sonda pozitivní *N. gonorrhoeae* (83 309 RLU), CT sonda negativní.
 10.11.04 uretra, rektum a krk kultivačně na GO negativní, uretra GO a CT sonda negativní.
 25.11.04 uretra kultivačně na GO negativní a GO a CT sonda negativní.
Serologie: RRR, TPHA, anti-HIV 1+2, antigen p24 ELISA - v rozmezí 3 měsíců 2x vše negativní.
Terapie: *Doxycyline* 100mg po 12 hodin (celkově 10 dní).
Výšetření: po přelčení antibiotiky je pacient bez potíží. Ustal výtok z rekta a průjmy. Dysurické potíže nejsou. Odesláno hlášení STD.

VÝSLEDKY

P1 byl poprvé vyšetřen s pozitivním výsledkem pouze sondou z uretry bez kultivace, po 12 a 20 dnech kultivačně negativní uretra, krk a rektum, po 32 dnech kultivačně pozitivní pouze krk (kmen NEGO1), uretra a rektum negativní. Ve výtěru z krku P1 po 48 hodinách vyřůstaly masivně meningokoky (*N. meningitidis* Y,W135), a proto nečistý suspenzi izolát v soupravě GenoGen II vykazoval vlastnosti *N. gonorrhoeae* (obr.1), avšak na APINH výsledek *N. meningitidis* (obr.2). *N. gonorrhoeae* byla z tohoto vzorku izolována až po 72 hodinách. Nutno po 48 hodinách selektivní půdu pečlivě izolovat a určit všechny gramnegativní diplokoky s pozitivní oxidázou a tutéž půdu po 72 hodinách zkontrolovat definitivně (obr.3).
 P2 poprvé vyšetřen s pozitivním výsledkem pouze sondou z uretry bez kultivace, po 19 dnech uretra pozitivní kultivačně a krk negativní, po 46 dnech pozitivní pouze krk, z něj izolovaný kmen NEGO 2 vykazuje vysokou rezistenci k ofloxacínu (vysoce rezistentní QRNG s MIC > 32 mg/l)(3). P4 byl pozitivní hned napoprvé v uretře (sonda + kultivace), krku a rekta (kmen NEGO 4). Pouze P3, který je sexuálním partnerem E1, byl pozitivní kultivačně pouze z krku (kmen NEGO 3), uretra kultivačně i sonda negativní. Kmeny NEGO 1 a NEGO 3 mají stejnou citlivost k testováním antibiotikům. Vlastnosti izolovaných kmenů jsou v tabulce č.1, příklady E-testů v obrázku 4. - 6.

LITERATURA

- Kuzmánská P. a kol.: Laboratorní průkazy gramnegativních koků a kokobolů. Avicenum, Praha 1987
- Murray P.R., Baron E.J. et al: *Neisseria* and *M. catarrhalis*, in Manual of Clinical Microbiology, 8th ed., 2003, p.585-608
- Kai Man Kam et al.: Detection of quinolone - resistant *Neisseria gonorrhoeae*. J. Clin. Microbiol., 1996, 34:1462-1464.



Obr.1: test GenoGen II, jamka s pozitivní reakcí na gonokokový protein I (A) kmen NEGO 1, vpravo negativní kontrola.

kmen NEGO	pacient	vzorek	cefináza	NET	TET	AZI	OFL	CTX	CTR	pozn.
1	P1	K	-	0,008	0,125	0,25	0,016	<0,016	0,004	P1-P3
2	P2	K, U	-	15	0,5	0,25	332	<0,016	0,004	QRNG
3	P3	K	-	0,008	0,125	0,25	0,016	<0,016	0,004	P1-P3
4	P4	K, U, R	-	0,008	0,064	0,25	0,008	<0,016	0,004	
FLU			+	32	0,125	0,064	0,008	0,032	0,004	PPNG

FLU - kontrolní laboratorní kmen *N. gonorrhoeae* FLU
 K, U, R - krk, uretra, rektum
 PEN - benzylpenicilin, TET - tetracyklin, AZI - azitromycin, OFL - ofloxacín, CTX - cefotaxim,
 CTR - ceftriaxon, MIC v mg/l
 C - citlivý, I - intermediární citlivost, R - rezistentní
 P1-P3 - kontakt
 QRNG - *N. gonorrhoeae* rezistentní k chinolonům, PPNG - *N. gonorrhoeae* produkuje penicilínazu

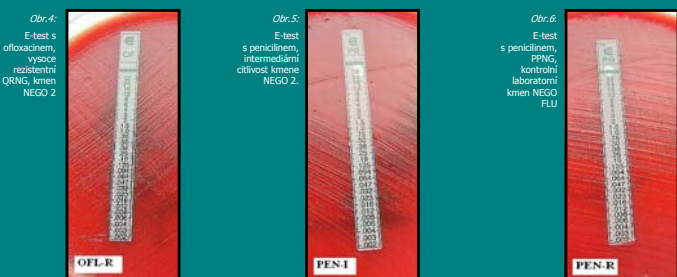
Tab.1: Charakteristika izolátů *N. gonorrhoeae* (dále NEGO)



Obr.2: test API NH, *N. meningitidis* (A), *N. gonorrhoeae* (B) kmen NEGO 1.



Obr.3: smíšená kultura *N. gonorrhoeae* (A) kmen NEGO 1 a *N. meningitidis* (B).



ZÁVĚR

- V období 2004-2005 byly zaznamenány ve spádové oblasti ostravské laboratoře fluorid a STI 4 případy gonokokové infekce orofaryngu. Pacienti byli muži 18-28 let, 2 bi-, 1 homo- a 1 heterosexuál. Pacienti P1 a P3 byli sexuálními partnery.
- Výtěry z krku a rekta na kultivaci GO nutno vyšetřovat na laboratoři STI, kde je k dispozici spolehlivá metoda selektivního kultivačního průkazu *N. gonorrhoeae* s odedičením za 24-48-72 hodin.
- Nutno dobře izolovat a určit všechny gramnegativní oxidázou-pozitivní diplokoky. Laborator kombinuje průkaz proteinu I gonokoků (GenoGen II) se stanovením biochemických vlastností izolátu (API NH).
- Všechny 4 kmeny NEGO byly dobře citlivé k cefotaximu (<0,016 mg/l), ceftriaxonu (0,004 mg/l) a azitromycinu (0,25 mg/l), citlivé k penicilínu (0,008-0,5 mg/l) a tetracyklinu (0,064-0,5 mg/l) a 1 kmen byl vysocí rezistentní k chinolonům (ofloxacín >32 mg/l). NEGO1 a NEGO3 byly stejně citlivé.
- Diagnostika GO genovou sondou z uretry musí být doprovázena kultivací. Urologické ambulance to mnohdy nedodržují.
- Gonokokové infekce faryngu a rekta budou v rizikových skupinách GO pozitivních pacientů zřejmě časté, vyskytují se i případy, kdy je gonokoková infekce omezena pouze na orofarynx.