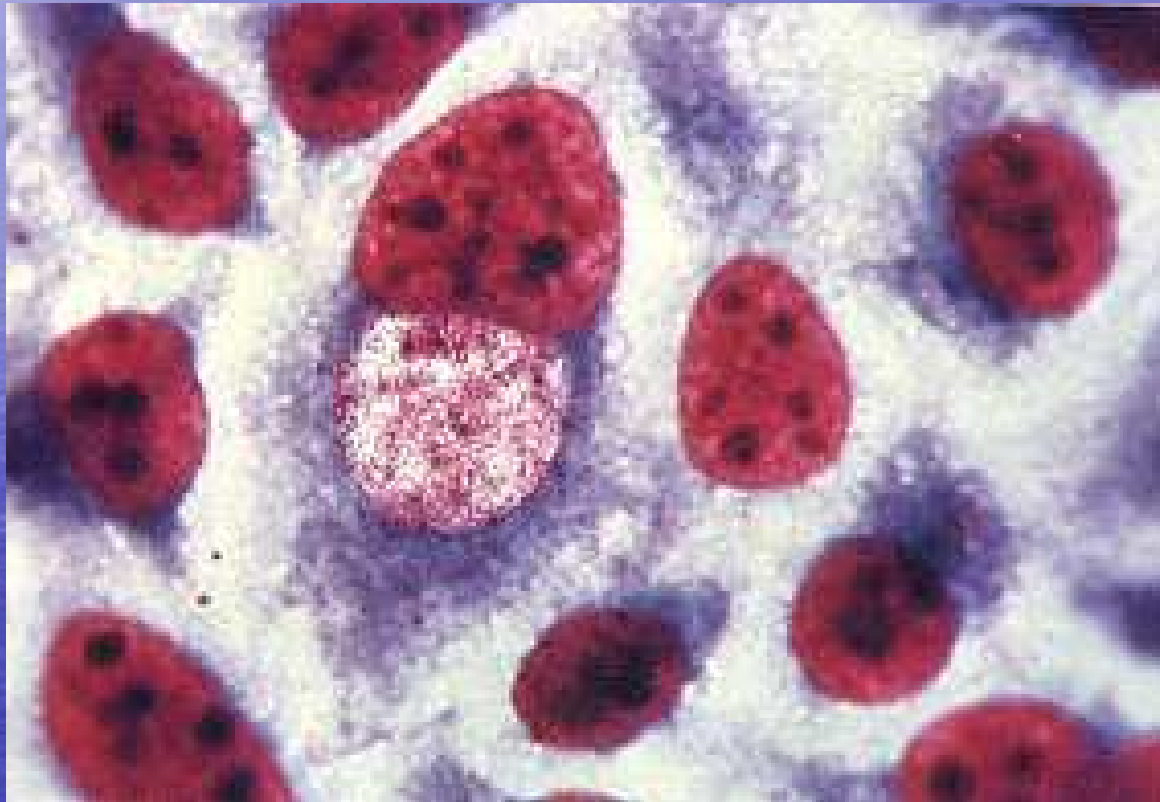


Chlamydia trachomatis

Dr. Daniela Badescu



Incluzii intracelulare de *C. trachomatis* (R.C.Barnes, Bacteriology, 1998)

Introducere

Taxonomie

Pana acum cativa ani :

fam. Chlamydiaceae → gen Chlamydia → specia C. trachomatis
C. psittaci
C. pneumoniae
C. pecorum

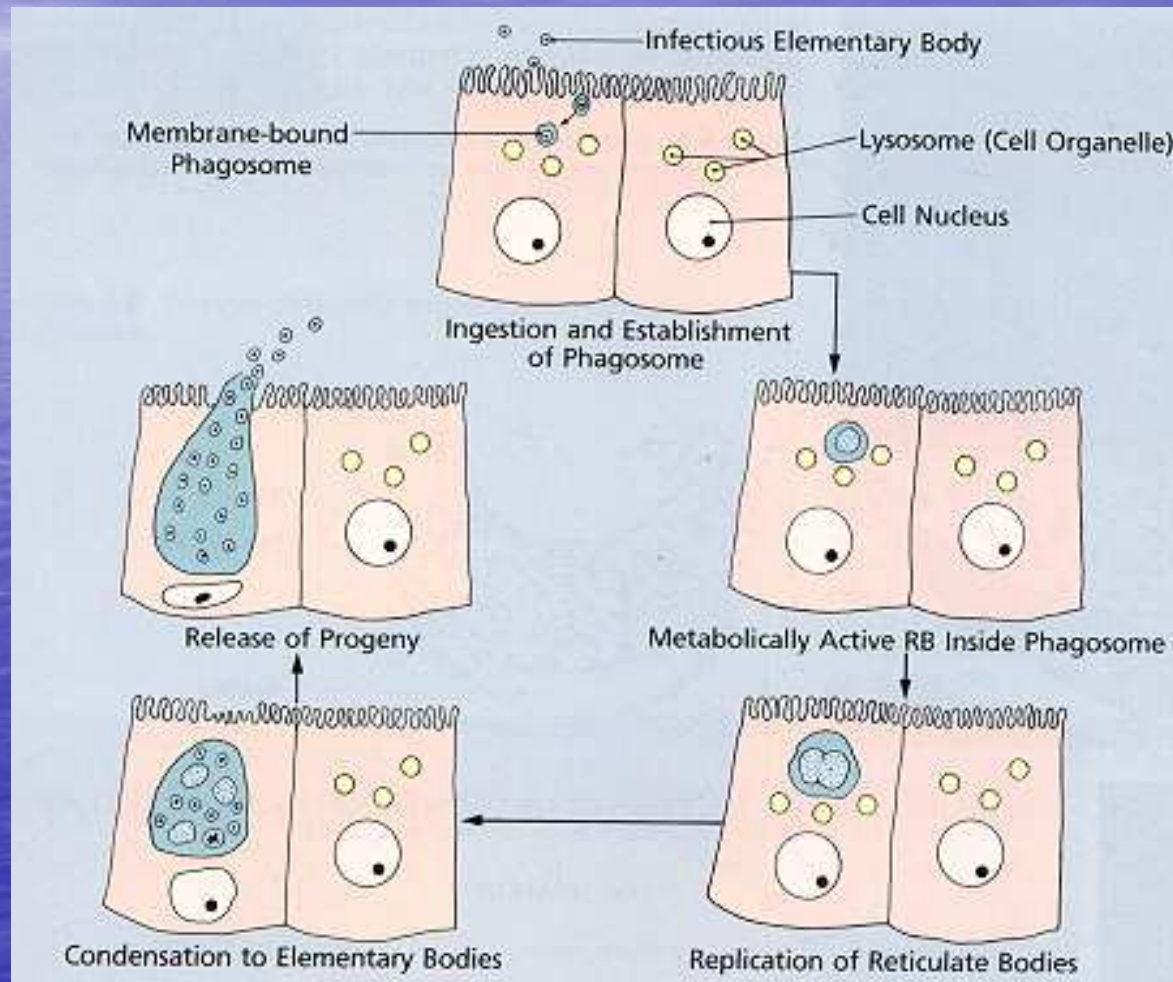
Everett (Helsinki, 2000) :

fam. Chlamydiaceae → gen Chlamydia → specia C. trachomatis
C. suis
C. muridarum
→ gen Chlamydophila → specia C. psittaci
C. pneumoniae
C. pecorum
C. felis
C. caviae
C. abortus

Biotipurile *C. trachomatis*

- 3 biotipuri:
 - pneumonia soarecelui
 - LGV – serovarurile L1, L2, L3
 - trachoma - serovarurile A, B, Ba, C → infectii oculare
- serovarurile D – K → infectii urogenitale

Ciclul de viata la *C. trachomatis* (R.C. Barnes, Bacteriology, 1998)



Manifestari clinice ale infectiei cu C.trachomatis

La femeia gravida infectia cu C. trachomatis poate determina:

- avort spontan
- sarcini ectopice
- endometrite postpartum

La nou-nascut infectia cu C. trachomatis poate determina:

- conjunctivita (la 5-12 zile dupa nastere)
- pneumonie (pneumonia afebrila subacuta la 1-3 luni dupa nastere)
- infectii oro-faringiene si ale tractului genital

Femeile gravide infectate cu C.trachomatis pot fi tratate cu eritromicina, azitromicina sau amoxicilina si ar trebui retestate la 3 saptamani de la terminarea tratamentului.

De asemenea se recomanda retestarea la 3-4 luni a tuturor celor care au avut o infectie cu C. trachomatis.

C. trachomatis este cea mai frecventa cauza a uretritelor negonococice la barbati.

Infectiile cu C.trachomatis sunt asimptomatice, mai ales la femei, in proportii variabile (dupa unii autori chiar 85% → important pentru diagnosticarea precoce a infectiilor).

In SUA se recomanda screening-ul anual al populatiei feminine din grupa de varsta 20-25 ani (aprox. 2000000-3000000 cazuri noi pe ani).

In Romania in anul 2003 s-a efectuat un studiu pe un lot de femei cu varsta intre 19-39 ani : 3,4% din femei au fost gasite pozitive pentru antigenul C. trachomatis prin testul PCR Cobas Amplicor CT/NG.

In perioada 2002-2003 un alt studiu a aratat prezenta anticorpilor de tip IgM si IgG (trusa ELISA) pentru C. trachomatis la aprox. 35% din femeile testate din grupa de varsta 15-45 ani.

Diagnosticul de laborator al infectiilor cu *C. trachomatis*

Detectare de antigene si CE :

➤ Recoltarea probelor:

- endocervicale: se utilizeaza tampoane comerciale (din bumbac, dacron, plastic sau metal); nu se ating peretii vaginului; se evita utilizarea recoltoarelor de lemn;
- uretrale: se utilizeaza tampoane comerciale indicate de producator;
- conjunctivale (la simptomatici): se utilizeaza tampoane comerciale de acelasi tip cu cele mentionate ;
- urina: primii 10-20 ml, la cel putin 1 ora de la ultima mictiune, colectata in recipiente sterile;

Probele sunt pastrate si transportate la temperatura 2 – 25 °C pana la prelucrare (nr. zile este indicat de producator).

➤ **Metode de testare:**

● **Cultura + Giemsa / IF**

- detectarea corpusculilor elementari (CE)
- singurul test in cazuri medico-legale
- permite efectuarea altor teste din aceeasi proba
- necesita mediu de transport, refrigerarea probei dupa recoltare (2-4°C – afecteaza viabilitatea microorganismelor),
- timp de pastrare 24-48ore
- specificitate : 100%
- sensibilitate scazuta : aprox. 55%
- numai in laboratoare de referinta
- timp indelungat

- **Teste EIA**

- detectarea antigenului LPS
- simple
- viabile si pentru probe cu un numar mic de CE
- sensibilitate variabila (70-95%)
- specificitate mare (90 – 97%)
- necesita teste de confirmare (reactiile incrucisate cu alte specii de Chlamydia sunt inlaturate prin teste de blocare cu anticorpi monoclonali, care verifica rezultatele pozitive)

- **Imunofluorescenta directa**

- detecteaza antigen specific de gen (LPS) sau specific de specie (MOMP)
- lama cu proba uscata si fixata poate fi pastrata la temperatura ambianta si prelucrata in ≤ 7 zile de la recoltarea probei
- vizualizeaza CE (marcati cu fluoresceina)
- test util pentru confirmarea altor teste (ex: EIA)
- calitatea rezultatelor depinde de experienta tehnicianului
- sensibilitate (75%) si specificitate (90% - 97%) comparabile cu cele ale testelor EIA

- **NAAT (Tehnici de amplificare bazate pe acizi nucleici)**
 - detectarea ADN si ARN (poate detecta chiar o singura copie a genei tinta)
 - recoltare neinvaziva (urina sau chiar probe vaginale)
 - nu necesita teste de confirmare a rezultatelor pozitive
 - standardizare posibila : exista kit-uri comerciale
 - sensibilitate : 90-98%
 - specificitate : 98-99%
 - necesita echipamente corespunzatoare
 - posibilitatea contaminarii

Metode de detectare a anticorpilor (in ser/plasma) :

Nu se recomanda diagnosticul serologic in infectiile urogenitale cu C.trachomatis :

- anticorpilor persista si in absenta infectiei, dupa terminarea tratamentului;*
- raspunsul in anticorpi poate fi slab sau absent;*
- pot exista reactii incrucisate cu alte specii de chlamydia.*

- **ELISA (IgA, IgM, IgG)**

- truse cu antigene fixate (LPS sau MOMP)*
- se recomanda testarea concomitenta a celor 3 clase de Ig, in dinamica – utila in depistarea infectiilor trompelor uterine sau ale uterului*

Detectarea exclusiv a unei clase de imunoglobuline, dintr-o singura proba de ser nu are valoare de diagnostic.

Anticorpilor persista si dupa terminarea tratamentului; nu au rol protector

- **Imunofluorescenta indirecta**

Test de blocare cu anticorpi monoclonali pentru verificare Chlamydia EIA

- Principiul testului:

Testul MicroTrak II Chlamydia EIA contine **anticorpi policlonali de iepure** impotriva antigenului chlamydial lipopolizaharidic (LPS).

Conjugatul contine o enzima legata de **anticorpi de capra indreptati impotriva anticorpilor de iepure**. Reactia intre conjugat legat de complexul antigen – anticorp si substrat produce culoarea specifica → densitate optica (DO).

In testul de blocare MicroTrak II :

aceeasi reactivi ca in trusa MicroTrak II EIA

+

anticorpi monoclonali de soarece impotriva LPS chlamydial

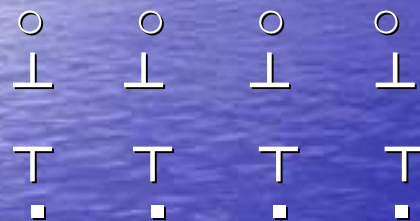
Anticorpul de soarece se leaga de LPS chlamydial in **competitie** cu cei de iepure. Conjugatul se leaga **exclusiv** de anticorpul de iepure.



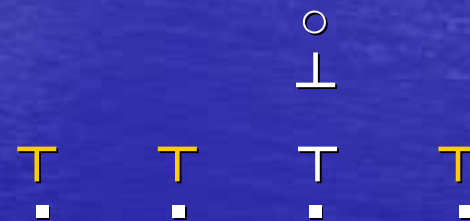
Valoarea DO se reduce. Daca procentul de blocare este $\geq 50\%$ rezultatul prezumptiv pozitiv este confirmat.

Daca procentul de blocare este $< 50\%$, rezultatul fals pozitiv initial nu se verifica (este negativ).

Proba fara reactiv de blocare:



Proba cu reactiv de blocare:



▪ = antigen LPS

┃ = anticorpi policlonali de iepure

┃ = anticorpi monoclonali de soarece

○ = conjugat (enzima conjugata cu anticorpi de capra anti-iepure)

┃

Screening-ul infectiilor urogenitale cu C. trachomatis la femei

- NAAT din proba endocervicala/urina
- Hibridizare de acid nucleic din proba endocervicala
- EIA sau DFA din proba endocervicala
- Cultura din proba endocervicala

Conform recomandarilor din MMWR vol. 51- 2002

Screening-ul infectiilor uretrale cu *C. trachomatis* la barbati

- NAAT din proba intrauretrala/urina
- EIA/DFA sau cultura din proba intrauretrala

Conform recomandarilor din MMWR vol. 51- 2002

Teste suplimentare utilizate dupa un test pozitiv de screening

PRINCIPII GENERALE

Toate testele pozitive de screening ar trebui sa fie considerate dovezi prezumtive ale infectiei, iar pacientii trebuie sfatuiti sa urmeze tratamentul corespunzator, deoarece un test suplimentar ar putea da un rezultat fals-negativ.

Se recomanda:

- testarea unei a doua probe printr-un test diferit
- testarea probei originale printr-un test diferit
- repetarea testului original pe proba originala folosind anticorpi de blocare
- repetarea testului original pe proba originala

TESTE SUPLIMENTARE

In cazul unui test de screening non-NAAT pozitiv:

- cultura cu coloratie anti-MOMP specifica pentru *C. trachomatis*
- test cu anticorpi de blocare
- test NAAT

In cazul unui test de screening NAAT pozitiv:

- un alt test NAAT

Conform recomandarilor din MMWR vol. 51- 2002