

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

MAGDALENA FREJ-MĄDRZAK | AGNIESZKA JAMA-KMIECIK | JOLANTA SAROWSKA | IRENA CHOROSZY-KRÓL

## DIAGNOSTYKA *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *NEISSERIA GONORRHOEAE*. MOŻLIWOŚCI I OGRANICZENIA STOSOWANYCH METOD

DIAGNOSIS OF *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *NEISSERIA GONORRHOEAE*. POSSIBILITIES AND LIMITATIONS OF THE METHODS USED

ORCID\*: 0000-0002-8138-2586 | 0000-0001-6514-8629 | 0000-0001-9710-2721 | 0000-0002-5006-4059

**STRESZCZENIE:** Zakażenia nabywane drogą bezpośrednich kontaktów seksualnych (STI) stanowią poważny problem wśród kobiet i mężczyzn. Do najczęściej rozpowszechnianych patogenów przenoszonych drogą płciową należą *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae*. Ze względu na możliwość asymptotycznego przebiegu infekcji, ich wykrycie może zostać przesunięte w czasie, co skutkuje licznymi powikłaniami. Dostępne są różne metody diagnostyczne, które cechują się zarówno różnorodnymi możliwościami, jak i ograniczeniami. Podstawowe informacje dotyczące danej techniki diagnostycznej pozwalają dostosować testy odpowiednio do danego typu pacjentów lub materiałów.

**SŁOWA KLUCZOWE:** *Chlamydia trachomatis*, diagnostyka, NAAT, *Neisseria gonorrhoeae*, STI

**ABSTRACT:** Sexually transmitted infections are a serious issue among women. *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* are the most commonly spread STIs. Due to the possibility of an asymptomatic course of infection, the detection of these pathogens can be postponed which results in numerous complications. There are various diagnostic methods, which have different possibilities, but also limitations. This paper includes basic information about the diagnostic techniques for adapting the tests according to the type of patient or material.

**KEY WORDS:** *Chlamydia trachomatis*, diagnosis, NAAT, *Neisseria gonorrhoeae*, STI

Zakład Nauk Podstawowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

✉ **MAGDALENA FREJ-MĄDRZAK**  
Zakład Nauk Podstawowych,  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,  
ul. Chałubińskiego 4, 50-368 Wrocław,  
Tel.: 71 784 13 06,  
e-mail: magdalena.frej-madrzak  
@umed.wroc.pl

Wpłynęło: 06.02.2019

Zaakceptowano: 14.02.2019

DOI: dx.doi.org/10.15374/FZ2019010

\*według kolejności na liście Autorów

### CHLAMYDIA TRACHOMATIS

*Chlamydia trachomatis* jest bakterią występującą w trzech biotypach odpowiedzialnych za różne zakażenia. Pierwszy biotyp wywołuje zapalenie płuc u myszy, drugi biotyp to LGV (serotypy L1–L3), będący przyczyną ziarnicy wenerycznej pachwin. Biotyp trachoma – zależnie od serotów – przyczynia się do rozwoju: jaglicy (serotypy A–C) albo infekcji układu moczowo-płciowego, zapalenia spojówek u dorosłych i u dzieci oraz zapalenia płuc u dzieci (serotypy D–K). Zakażenia *C. trachomatis*, szczególnie serotypy D–K, są najczęściej odnotowywanymi infekcjami na świecie [8].

Transmisja *C. trachomatis* odbywa się zazwyczaj poprzez bezpośredni kontakt śluzówki (pochwy, odbytu) podczas stosunku płciowego lub oralnego albo – w przypadku niemowląt – podczas porodu poprzez zainfekowany kanał szyjki macicy matki. Szacuje się, że prawdopodobieństwo transmisji wynosi około 10% w przypadku pojedynczego

stosunku waginalnego i około 55% w przypadku pacjentów, którzy w okresie sześciu miesięcy mieli co najmniej dwóch partnerów. Bardzo prawdopodobne jest, że partnerzy osób z zakażeniem *C. trachomatis* również zostali zainfekowani, dlatego też tak ważne jest ich powiadomienie i późniejsze leczenie. Mimo doniesień literaturowych o samoistnych ustąpieniach infekcji *Chlamydia trachomatis*, zaleca się wykonywanie odpowiednich badań u objawowych i bezobjawowych, aktywnych seksualnie osób, a po identyfikacji patogenu leczenie zarówno chorych, jak i ich partnerów z okresu ostatnich 6 miesięcy.

Ze względu na powinowactwo do nabłonka walcowatego u kobiet, *Chlamydia trachomatis* zakaża szyjkę macicy, cewkę moczową i odbytnicę, w wyniku czego rozwija się zapalenie szyjki macicy, jajowodów oraz narządów miednicy mniejszej (ang. pelvic inflammatory disease – PID). Powikłaniem może być: niepłodność, zapalenie tkanki okołowątrobowej (do którego dochodzi poprzez ciągłość tkanek),

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

zespół Fitz-Hugh-Curtisa (PID z zapaleniem tkanki okołowątrobowej) i zapalenie spojówek, najczęściej jako autoinfekcja. U kobiet może wystąpić zapalenie odbytnicy (zarówno jako zakażenie bezpośrednie, jak i jako powikłanie PID). U mężczyzn zakażona jest głównie cewka moczowa i odbytnica, co skutkuje zapaleniem cewki moczowej (ang. non-gonorrhoeal urethritis – NGU), najądrzy i stercza oraz odbytnicy. Powikłaniem może być także niepłodność (w postaci niedrożności jajowodów) lub zespół Reitera, czyli jednoczesne zapalenie cewki moczowej i spojówek, oraz chlamydio-we reaktywne zapalenie stawów (ang. sexually-acquired reactive arthritis – SARA). Zakażenia u dzieci mają głównie charakter okołoporodowy; chlamydia występuje na błonach śluzowych nosa i gardła, wywołując śródmiąższowe zapalenie płuc oraz zapalenie spojówek [3].

W Europie wykryte i zarejestrowane zakażenia dotyczą w przeważającej części heteroseksualnych kobiet (51%) i mężczyzn (35%), infekcje okołoporodowe stanowią <1%; pozostała część to zakażenia u homoseksualnych mężczyzn (10%) i niekreślone [4]. Należy jednak przyjąć, że są to wartości zaniżone ze względu na małą liczbę zgłoszeń, np. w Polsce w latach 2013–2017 zarejestrowano tylko 1628 przypadków na ponad 2 miliony infekcji w Europie [4].

Cykl rozwojowy *C. trachomatis* przebiega wewnątrzkomórkowo i trwa do 72 godzin. Bakteria ta występuje w dwóch formach: EB (ciałka elementarnego, które jest formą zakaźną, ale niezdolną do podziałów) oraz RB (ciałka siateczkowatego, odpowiedzialnego za podziały i zwiększenie liczby tego drobnoustroju u gospodarza). W niekorzystnych warunkach drobnoustroje te mogą przejść w formy przetrwałe, które są niezdolne do przekształcenia się w EB, co powoduje blokadę cyklu i powstanie dużych atypowych form. Do czynników indukujących powstawanie form przetrwałych *in vitro* należą antybiotyki β-laktamowe (np. penicylina, która blokuje podziały RB, co zapobiega ich dalszemu przekształceniu w EB). Ekspozycja na działanie antybiotyków β-laktamowych skutkuje kumulacją dużych nietypowych RB (tzw. form penicylinowych). Poza tym na powstanie form przetrwałych mają wpływ czynniki żywieniowe (zmniejszenie dostępu do podstawowych aminokwasów i jonów, np. zmniejszenie egzogenego tryptofanu lub żelaza), a także czynniki immunologiczne (prozapalne cytokiny i IFN-γ; IFN-γ blokuje replikację ciałek siateczkowatych – duże zniekształcone formy chlamydii można obserwować w komórkach z IFN-γ w warunkach *in vitro*). Zakażenia w formie chronicznej przetrwałej częściej skutkują rozwojem powikłań u chorych.

Infekcje u kobiet w 70–95% są bezobjawowe. Jeśli pojawiają się symptomy zakażenia, to 10–14 dni po kontakcie. Najczęściej obserwuje się: śluzowe zapalenie szyjki macicy z/lub bez kontaktu (później ropne), krwawienia, kruchość szyjki macicy, obrzęk szyjki macicy oraz wrzody szyjki macicy [1]. Zakażeniu *C. trachomatis* towarzyszą

również: dysuria, upławy pochwowe, krwawienie po stosunku i krwawienie międzymiesiączkowe oraz słabo zróżnicowany ból brzucha lub podbrzusza. Następstwem bezobjawowej lub nieleczonej infekcji u kobiet mogą być powikłania pod postacią: PID (obejmujące: zapalenie błony śluzowej macicy, zapalenie jajowodów, zapalenie przymacicza, ropień jajników i jajowodów, zapalenia otrzewnej), przewlekłego bólu miednicy mniejszej, niepłodności jajowodowej, ciąży pozamacicznej lub przerwania błon płodowych. Obecność zapalenia narządów miednicy mniejszej sugerują: tkliwość i ból brzucha oraz podbrzusza (zwykle obustronna), tkliwość i ból podczas badań ginekologicznych, ostra dyspareunia, nieprawidłowe krwawienia, nieprawidłowe upławy z pochwy lub szyjki macicy (w wyniku zapalenia szyjki macicy), zapalenie błony śluzowej macicy lub bakteryjne zapalenie pochwy. Może wystąpić również reaktywne zapalenie stawów nabyte drogą płciową (<1%) [7].

Objawy u mężczyzn występują częściej niż u kobiet, lecz większość zakażeń *C. trachomatis* jest bezobjawowa (25–100%), zwykle więcej niż 50% przypadków. Infekcja zazwyczaj ma postać zapalenia cewki moczowej (NGU) z towarzyszącą dysurią, wydzieliną z cewki moczowej lub zapalenia najądrzy. Powikłania u mężczyzn obejmują: SARA (<1%), zespół Reitera (NGU, zapalenie spojówek i SARA), zapalenie jądra i najądrza lub samo zapalenie najądrzy. Chlamydie są przyczyną ponad 2/3 przypadków ostrego zapalenia najądrzy u młodych aktywnych seksualnie mężczyzn <35. roku życia. Chlamydialne zapalenie najądrzy może prowadzić do częściowej lub całkowitej niedrożności kanalików wyprowadzających nasienie i do upośledzenia płodności również z powodu podwyższonej temperatury.

Wtrętowe zapalenie spojówek, występujące u osób dorosłych, towarzyszy najczęściej zakażeniu układu moczowo-płciowego (autoinfekcja). W obrazie klinicznym dominuje: łzawienie, przekrwienie spojówek, światłowstręt, niezbyt nasilony obrzęk powiek oraz obecność śluzowej wydzieliny. Zapalenie spojówek nie powoduje ślepoty, chociaż w jego przebiegu obserwowano powikłania w postaci łuszczki lub owrzodzeń rogówki.

Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego (PTG) obejmują grupy kobiet ≤25. roku życia: nieciążarne, u których zaleca się wykonywanie badania w kierunku *Chlamydia trachomatis* raz w roku (zwłaszcza przed planowaną ciążą) oraz ciężarne kierowane na badanie w I i III trymestrze ciąży. U pacjentek >25. roku życia rekomenduje się następującą częstotliwość badań w kierunku *C. trachomatis*:

- u kobiet nieciążarnych – przynajmniej raz w roku, w szczególności u kobiet podejmujących ryzykowne zachowania seksualne (zwłaszcza przed planowaną ciążą);
- u kobiet ciężarnych – badanie w I trymestrze ciąży (zalecane przy pierwszej wizycie), w III trymestrze tylko u pacjentek z grupy ryzyka [11].

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

## DIAGNOSTYKA *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Według wytycznych „European guideline on the management of *Chlamydia trachomatis* infections” wskazaniem do wykonania badań laboratoryjnych w kierunku obecności *C. trachomatis* jest obecność czynników ryzyka zakażenia i/ lub inne STI (ang. sexually transmitted infections, infekcje nabywane drogą kontaktów seksualnych), tj.: wiek <25 lat, nowy kontakt seksualny w ciągu ostatniego roku, więcej niż jeden partner w ostatnim roku. Wykonanie badań zaleca się w przypadku wystąpienia:

- objawów zapalenia cewki moczowej u mężczyzn;
- upławów z szyjki macicy lub pochwy z czynnikiem ryzyka STI u kobiet;
- ostrego zapalenia jąder-najądrzy u mężczyzn w wieku <40 lat lub/z czynnikami ryzyka STI;
- ostrego bólu w obrębie miednicy i/lub objawów PID;
- zapalenia odbytnicy/zapalenia jelita grubego stosownie do ryzyka STI;
- surowiczego zapalenia spojówek u noworodka lub osoby dorosłej;
- atypowego zapalenia płuc u noworodków (śródmiąższowego).

Na badania kierowane są również osoby, u których zdiagnozowano inne STI lub które mają kontakty seksualne z chorymi z STI lub PID, pacjentki po terminacji ciąży lub po wszelkich interwencjach i manipulacjach wewnątrzmacicznych [5].

Diagnostyka *Chlamydia trachomatis* opiera się na:

- hodowli tkankowej – obserwacja ciałek wtrętowych;
- odczynie immunofluorescencji (IF) bezpośredniej – wykrywanie ciałek elementarnych w komórkach nabłonkowych;
- odczynie immunoenzymatycznym i IF – oznaczanie antygenów chlamydii;
- odczynie mikroimmunofluorescencji i immunofluorescencji pośredniej oraz metodzie immunoenzymatycznej (ang. enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) – pozwalają określić obecność lub miano swoistych przeciwciał klasy IgA, IgM, IgG, IgG antyC-HSP60 [9].

W metodach opartych na określaniu miana immunoglobulin we krwi pacjenta kluczową rolę odgrywa dynamika przeciwciał – należy oznaczyć stężenie dwóch klas Ig w odstępie 2 tygodni. Przebyta infekcja nie zapewnia odporności przed ponownym zakażeniem. Jednak obecnie rekomendowane i często wykorzystywane są metody genetyczne. Wśród licznych technik mających zastosowanie w diagnostyce najbardziej rozpowszechnione są: NAAT (ang. nucleic acid amplification tests), metody nested PCR (ang. nested polymerase chain reaction), LCR (ang. ligase chain reaction) oraz PCR real time CT, które opierają się na wykrywaniu kwasów nukleinowych chlamydii. W testach na *C. trachomatis* najczęściej

stosowane są trzy metody: diagnostyczne DIF (ang. direct immunofluorescence), diagnostyczne ELISA oraz genetyczne. DIF może być stosowany we wszystkich typach próbek i charakteryzuje się szybkim czasem realizacji. Metoda ta cechuje się niską czułością na mocz, a subiektywna ocena wyniku i duży nakład pracy wymagają specjalistycznej wiedzy oraz doświadczenia badającej osoby. ELISA jest metodą prostą, do odczytu nie jest konieczne posiadanie doświadczenia. Charakteryzuje się niską czułością (40–70%); nie jest techniką odpowiednią dla moczu oraz samodzielnych wymazów. Konieczność wykonywania kilku oznaczeń znacznie zwiększa koszty badania. NAAT jest metodą coraz powszechniejszą i może być używana w różnych modyfikacjach, tj.: PCR, SDA (ang. strand displacement amplification) oraz TDA (ang. transcription-mediated amplification). Techniki te charakteryzują się wysoką czułością (90–95%), mogą być stosowane do próbek moczu i wymazów (w tym pobieranych samodzielnie przez pacjenta) oraz zostały zwalidowane dla materiałów pobieranych z miejsc pozagenitalnych (w tym odbytnicy). W przypadku niektórych z nich wynik badania uzyskuje się po 90 minutach. Do ograniczeń tych metod należą: wysokie koszty, fałszywie pozytywne wyniki (mogą być problemem przy niektórych ustawieniach), brak licencji dla materiałów pobieranych z miejsc pozagenitalnych [2, 5]. Testy genetyczne mogą wykrywać zarówno genomowe, chromosomalne DNA (np. sekwencje docelowe CT1 lub geny *crp* (ang. cystein rich protein)), jak i RNA (np. rybosomalne 16S lub 23S RNA), a także plazmidowe (tj. plazmidy kryptyczne, charakterystyczne dla *C. trachomatis*, np. CP102 i CP103). Z użyciem wybranych testów możliwe jest również wykrywanie tak zwanego wariantu nordyckiego chlamydii (nvCT), zawierającego mutację punktową w obrębie plazmidu kryptycznego (delecja 377 bp), która znajduje się w obrębie wykrywanego fragmentu w niektórych kitach PCR [12].

Chlamydie zakażają nabłonek walcowaty. W celu identyfikacji tych drobnoustrojów należy pobrać komórki nabłonkowe z miejsca zakażenia. Wydzielina nie jest właściwym materiałem do badań ze względu na wewnątrzkomórkowy cykl rozwojowy tych bakterii. Kluczowe jednak dla tego typu testów jest pobieranie i przesyłanie materiału. Stosowanie przez pacjentów zestawów do samodzielnego pobierania materiału do badań w kierunku *C. trachomatis* może skutkować fałszywie ujemnymi wynikami (brak nabłonek w próbce). Dlatego w zestawach genetycznych należałoby stosować odczynniki do kontroli, wykrywające obecność pojedynczej kopii ludzkiego genu, co pozwala sprawdzić, czy próbka zawiera ludzkie DNA. W większości dostępnych zestawów nie podano charakterystyki testu dla pacjentów poniżej 14. roku życia i dla kobiet ciężarnych lub po histerektomii. Pacjent przed pobraniem materiału nie powinien oddawać moczu minimum 2 godziny ze względu na możliwość wypłukania (usunięcia) komórek nabłonkowych podczas mikcji – pierwszy strumień moczu. Komórki nabłonkowe

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Tabela 1. Wykrywane sekwencje w testach NAAT na *C. trachomatis* i *N. gonorrhoeae*. Opracowano na podstawie [9].

Test	Wykrywany fragment kwasu nukleinowego <i>C. trachomatis</i>	Wykrywany fragment kwasu nukleinowego <i>N. gonorrhoeae</i>
Abbott RealTime® CT/NG (Abbott Laboratories)	Dwie odrębne specyficzne sekwencje regionów w DNA plazmidu kryptycznego <i>C. trachomatis</i> o długości 7500 par zasad Test nie wykrywa <i>C. trachomatis</i> , które nie posiadają plazmidów Brak fałszywie dodatnich testów opartych na analitycznych testach specyficzności	Seqwencje 48 par zasad w genie <i>opa N. gonorrhoeae</i> Brak fałszywie dodatnich testów opartych na analitycznych testach specyficzności
Aptima Combo 2® Assay Aptima® CT Assay Aptima® GC Assay (Hologic/Gen-Probe Inc.)	Specyficzny region 23S rRNA <i>C. trachomatis</i> (Aptima Combo 2® Assay) Specyficzny region 16S rRNA <i>C. trachomatis</i> (Aptima® CT Assay) Zarówno Aptima Combo 2® Assay, jak i Aptima® CT Assay wykrywają nvCT Test wykrywa <i>C. trachomatis</i> bez plazmidów Brak fałszywie dodatnich testów opartych na analitycznych testach specyficzności	Specyficzny region 16S rRNA <i>N. gonorrhoeae</i> (Aptima Combo 2® Assay) Specyficzny region 16S rRNA <i>N. gonorrhoeae</i> odmienny w Aptima Combo 2® Assay (Aptima® GC Assay) Brak fałszywie dodatnich testów opartych na analitycznych testach specyficzności
BD ProbeTec™ QXCT Amplified DNA Assay	Jedna odmienna sekwencja 7500 par zasad DNA plazmidu kryptycznego <i>C. trachomatis</i> Nie wykrywa bezplazmidowych <i>C. trachomatis</i> Brak fałszywie dodatnich wyników opartych na analitycznych testach specyficzności	Chromosomalny gen piliny – homolog białka inwertazy Obecność <i>Neisseria cinerea</i> , <i>Neisseria subflava</i> i <i>Neisseria lactamica</i> może skutkować fałszywie dodatnimi wynikami w oparciu o analityczne testy specyficzności
BD ProbeTec™ QXCT Amplified DNA Assay BD ProbeTec™ QXGC Amplified DNA Assay (Becton Dickinson)	Jedna odmienna sekwencja wykrywa 7500 par zasad DNA plazmidu kryptycznego <i>C. trachomatis</i> Nie wykrywa bezplazmidowych <i>C. trachomatis</i> Brak fałszywie dodatnich wyników opartych na analitycznych testach specyficzności	Chromosomalny gen piliny – homolog białka inwertazy Obecność <i>N. cinerea</i> i <i>N. lactamica</i> może skutkować fałszywie dodatnimi wynikami w oparciu o analityczne testy specyficzności
Xpert® CT/NG Assay (Cepheid)	Jedna odmienna sekwencja chromosomowego DNA <i>C. trachomatis</i> Brak fałszywie dodatnich wyników opartych na analitycznych testach specyficzności Test wykrywa bezplazmidowe <i>C. trachomatis</i>	Dwie odrębne sekwencje chromosomowe, każda z innym genem reporterowym Obie sekwencje muszą zostać wykryte, aby uzyskać pozytywny wynik <i>N. gonorrhoeae</i> Brak fałszywie dodatnich wyników opartych na analitycznych testach specyficzności
Cobas® CT/NG test (Roche Diagnostics)	CT primery CP102 i 103 definiujące sekwencję około 206 nukleotydów w DNA plazmidu kryptycznego <i>C. trachomatis</i> CT primery CTMP101 i CTMP102 definiujące sekwencję około 182 nukleotydów chromosomalnego DNA <i>C. trachomatis</i> Brak fałszywie dodatnich wyników opartych na analitycznych testach specyficzności Test wykrywa bezplazmidowe <i>C. trachomatis</i>	NG primery NG514 i NG519 definiujące sekwencję około 190 nukleotydów (DR-9A) w regionie DR-9 NG primery, NG552 i NG579 definiujące drugą sekwencję około 215 nukleotydów (DR-9B) w regionie DR-9 Brak fałszywie dodatnich wyników opartych na analitycznych testach specyficzności

pobiera się, stosując delikatny nacisk i obrót wymazówką. Obecność w pobranym materiale niektórych substancji, takich jak: krew, śluz (ze względu na obecność mucyny), płyn nasienny, hormony (progesteron,  $\beta$ -estradiol), LGV II (CT EB) lub niektórych leków (np. krem przeciwświądowy Vagisil®, krem Clotrimazol), może mieć wpływ na wyniki ze względu na powstające interferencje. Wszystkie materiały do badań należy pobierać przed rozpoczęciem antybiotykoterapii lub minimum 7 dni po jej zakończeniu. Nie jest znany wpływ aktualnego leczenia na jakość oznaczenia. Nie zaleca się pobierania materiału u pacjentek: w czasie krwawienia, z widocznymi zmianami chorobowymi, które mogą powodować krwawienie, w środku cyklu (wiąże się to z dużą ilością śluzu i wydzieliny w szyjce macicy). U pacjentek bezpośrednio po stosunku płciowym konieczne jest oczyszczenie miejsca pobrania [6].

## NEISSERIA GONORRHOEAE

*Neisseria gonorrhoeae* jest drugim w kolejności bakteryjnym czynnikiem etiologicznym STI. Gonokokowe infekcje są przyczyną silniejszej niż w przypadku *C. trachomatis*

odpowiedzi zapalnej, jednakże u kobiet są zwykle asymptotyczne aż do momentu wystąpienia powikłań, np. PID.

U mężczyzn zakażenie *N. gonorrhoeae* występuje w postaci ostrego zapalenia cewki moczowej z obecnością wydzieliny (>80% przypadków) oraz objawami dyzurycznymi (>50% przypadków), które pojawiają się 2–8 dni po ekspozycji na zakażenie. Bezobjawowe infekcje są u mężczyzn rzadkie (<10% zakażeń cewki moczowej).

U kobiet *N. gonorrhoeae* wywołuje najczęściej zakażenie kanału szyjki macicy lub cewki moczowej. Objawy kliniczne infekcji są następujące: zwiększenie ilości lub zmiana charakteru wydzieliny z pochwy ( $\leq 50\%$  przypadków), bóle w podbrzuszu ( $\leq 25\%$ ), objawy dyzuryczne (10–15%), rzadko krwawienie międzymiesiączkowe lub bardzo obfite krwawienia miesiączkowe. Zapalenie kanału szyjki macicy przebiega najczęściej asymptotycznie ( $\geq 50\%$ ), a zapalenie odbytnicy i gardła są zazwyczaj bezobjawowe [14].

Wskazaniami do wykonania badań w kierunku *Neisseria gonorrhoeae* są:

- obecność wydzieliny z cewki moczowej u mężczyzn;
- obecność patologicznych upławów u kobiet przy występowaniu czynników ryzyka zachorowania na STI (wiek <30 lat, nowy partner seksualny);

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

- zapalenie szyjki macicy z obecnością ropnej wydzieliny u kobiet.

Diagnostyka jest konieczna również w przypadku, kiedy u pacjenta: rozpoznano inne STI, zdiagnozowano STI lub PID u partnera, rozwinęło się ostre zapalenie jąder i najądrzy u mężczyzny <40. roku życia albo ostre zapalenie narządów miednicy mniejszej. Badania przesiewowe należałoby wykonać także w następujących grupach:

- u młodych dorosłych osób (<25 lat) w celu wykrycia infekcji przenoszonych drogą płciową;
- u osób mających nowych lub licznych partnerów w ostatnim czasie;
- u noworodków lub dorosłych pacjentów, u których wystąpiło ropne zapalenie spojówek lub w przypadku, kiedy matka noworodka ma zapalenie spojówek [13].

## DIAGNOSTYKA *NEISSERIA GONORRHOEAE*

W diagnostyce *N. gonorrhoeae* zastosowanie mają badania mikroskopowe, metody hodowlane i NAATs. Metoda mikroskopowa opiera się na wykonaniu preparatu barwionego metodą Grama, a następnie (pod powiększeniem 1000×) na potwierdzeniu obecności dwoinki rzeżączki wewnątrz leukocytów wielojądrzastych. Technika ta nie jest jednak rekomendowana w przypadku diagnostyki mężczyzny bez objawów klinicznych, a także zapalenia szyjki macicy (≤55% przypadków) i odbytnicy oraz w infekcji gardła.

Hodowla *N. gonorrhoeae* jest swoista i tania, ale długotrwała; wynik otrzymuje się po upływie 24–96 godzin, 3–7% CO<sub>2</sub>. Umożliwia ona ocenę lekowrażliwości i jest niezbędna do wykrywania oraz monitorowania zmieniającej się antybiotykooporności. Szerokie zastosowanie ma technika amplifikacji kwasów nukleinowych. Jest to metoda szybka, charakteryzująca się wysoką czułością (>96%) w diagnostyce infekcji zarówno objawowych, jak i bezobjawowych. Cechuje się również wysoką czułością badania próbek moczu i wymazów z cewki moczowej u mężczyzny, próbek z pochwy i kanału szyjki macicy pobranych przez lekarza lub samodzielnie przez pacjentki. Ma szerokie zastosowanie jako metoda badań przesiewowych z wyboru u pacjentów bez objawów choroby.

Metody oparte na NAATs stosowane w badaniach w kierunku obecności *N. gonorrhoeae* wykrywają DNA chromosomalne, np. gen *Opa* lub 16S rRNA. Opierają się głównie na PCR, np.: real time PCR, nested PCR. Ponieważ obydwa przedstawione w niniejszej pracy patogeny skutkują STI, często spotyka się testy wykrywające oba te drobnoustroje jednocześnie [9]. Testy diagnostyczne przedstawiono w Tabeli 1 [9].

Produkty amplifikacji mogą być wykrywane różnymi metodami: bromkiem etydyny (który ze względu na szkodliwość jest coraz rzadziej używany), barwnikiem SYBR Green lub Blue PCR, które cechują się: dużą czułością nawet przy małej ilości produktu, skutecznym wzmocnieniem skomplikowanych

produktów, wysoką specyficznością oraz wysoką wydajnością w różnych warunkach PCR. Niektóre zestawy diagnostyczne wykrywają produkty amplifikacji za pomocą ELISA, która ma wysoką swoistość nawet w przypadku mutacji punktowych oraz wysoką czułość pozwalającą wykryć pojedynczą kopię genu. Jest to metoda dość uniwersalna, dająca możliwość wykrycia różnych mutacji genów i mikroorganizmów [10].

Przedstawione testy wskazują na szeroki wachlarz dostępnych metod diagnostycznych, które można wykorzystać w celu wykrycia *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae*. Należy jednak pamiętać, aby rodzaj techniki dostosować do danego typu pacjentów lub materiałów. Każdy wynik testu należy interpretować w kontekście objawów klinicznych chorego oraz innych wyników badań laboratoryjnych. Uzyskanie wyniku ujemnego nie wyklucza zakażenia omawianymi drobnoustrojami.

KONFLIKT INTERESÓW: nie zgłoszono.

## PIŚMIENNICTWO

1. Berntsson M, Tunbäck P. Clinical and microscopic signs of cervicitis and urethritis: correlation with *Chlamydia trachomatis* infection in female STI patients. *Acta Derm Venereol* 2013;93(2):230–233.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. *Chlamydia control in Europe – 2009*. ECDC (online) 2009; [https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/0906\\_GUI\\_Chlamydia\\_Control\\_in\\_Europe.pdf](https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/0906_GUI_Chlamydia_Control_in_Europe.pdf)
3. European Centre for Disease Prevention and Control. *Chlamydia control in Europe: literature review*. ECDC (online) 2014; <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/chlamydia-control-europe.pdf>
4. European Centre for Disease Prevention and Control. *Chlamydia infection*. Annual epidemiological report for 2017. ECDC (online) 2019; <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/chlamydia-infection-annual-epidemiological-report-2017>
5. European Centre for Disease Prevention and Control. *Guidance on Chlamydia control in Europe 2015*. ECDC (online) 2016; <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/chlamydia-control-europe-guidance.pdf>
6. Lanjouw E, Ossewaarde JM, Sary A, Boag F, van der Meijden WI. 2010 European guideline for the management of *Chlamydia trachomatis* infections. *Int J STD AIDS* 2010;21(11):729–737.
7. Lanjouw E, Ouburg S, de Vries HJ, Sary A, Radcliffe K, Unemo M. 2015 European guideline on the management of *Chlamydia trachomatis* infections. *Int J STD AIDS* 2016;27(5):333–348.
8. Meyer T. Diagnostic procedures to detect *Chlamydia trachomatis* infections. *Microorganisms* 2016;4(3):25.
9. Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, Van Der Pol B; CDC. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* – 2014. *MMWR* 2014;63(RR-2); <https://www.cdc.gov/std/laboratory/2014labrec/2014-lab-rec.pdf>
10. Puppe W, Weigl J, Grondahl B et al. Validation of a multiplex reverse transcriptase PCR ELISA for the detection of 19 respiratory tract pathogens. *Infection* 2013;41(1):77–91.
11. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotyczące zakażeń *Chlamydia trachomatis* w położnictwie i ginekologii. *Ginekol Pol* 2007;78:574–575.
12. Shipitsyna E, Hadad R, Ryzhkova O, Savicheva A, Domeika M, Unemo M. First reported case of the Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis* (nvCT) in Eastern Europe (Russia), and evaluation of Russian nucleic acid amplification tests regarding their ability to detect nvCT. *Acta Derm Venereol* 2012;92(3):330–331.
13. Workowski AK, Berman S. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010. *Recommendations and Reports* 2010;59(RR12):1–110.
14. Workowski AK, Bolan GA. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *Recommendations and Reports* 2015;64(RR3):1–137.