

STD: KLINIKAI LABORATÓRIUMI VONATKOZÁSOK

Dr. Ostorházi Eszter


Szexuális úton (is) átvihető fertőző betegségek

- Lokális tünettel járó fertőzések
 - Gonorrhoea
 - Chlamydiasis (D-K)
 - egyéb NGU
 - Ulcus molle
 - Soor/Candidiasis
 - Herpes genitalis
 - Trichomoniasis
 - HPV
 - Donovaniosis
 - Lapostetü
- Szisztémás fertőzés, lokális tünetekkel vagy anélkül
 - HIV
 - HBV,HCV
 - Syphilis
 - Chlamydiasis (L1-3)

Lokális tünet

Urethralis, vaginalis folyás
(dysuria, dyspareunia, pollakisuria)

Genitaliakon megjelenő bőr-,
nyálkahártya tünet (fekély, seb,
szemölcs, condyloma,
nyirokcsomó...)

- *Neisseria gonorrhoea*
 - *Chlamydia trachomatis* (D-K)
 - egyéb NGU/PGU
 - *Mycoplasma hominis*, *M. genitalium*, *Ureaplasma ureolyticum*, *U. parvum*
 - Soor/Candidiasis
 - Trichomoniasis
 - Bakteriális vaginózis
 - Citolitikus vaginózis
- Herpes genitalis
 - HSV I, HSV II
 - Syphilis
 - HPV
 - Lymphogranuloma venereum
 - *Chlamydia trachomatis* L1-L3
 - Ulcus molle
 - *Haemophilus ducrey*
 - Donovaniosis
 - *Chalymmatobacter (Klebsiella) granulomatis*
- 

Klinikai képtől a helyes terápia kiválasztásáig

Könnyen tenyészthető baktériumok

- Tenyésztés
- Antibiógram
- Kezelés

Különleges tenyésztési igényű baktériumok

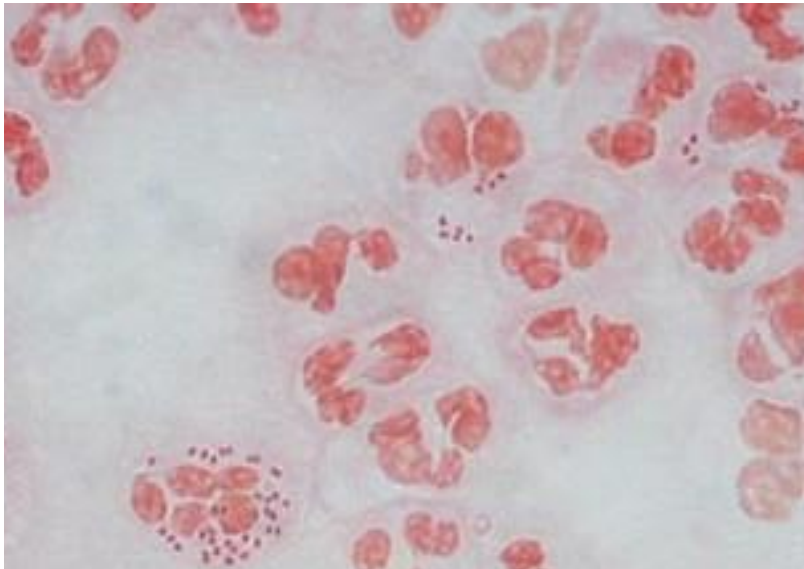
- Nemzeti referencia laboratórium szerepe
 - ▣ Tenyésztés
 - ▣ Antibiógram
- Molekuláris diagnosztika
- Szerológiai diagnosztika

Urethritis/vaginitis diagnosztikája

- Natív mikroszkópos vizsgálat» *Trichomonas vaginalis*
- Gram festés » Gonorrhoea, NGU, BV, CV, Candidiasis
- Tenyésztés
 - Thayer-Martin Agar *N. gonorrhoeae*
 - Sabouraud Agar *Candida* fajok
 - CPLM *T. vaginalis*
 - Gyári kit *Ureaplasma*, *Mycoplasma hominis*
- PCR

Gram-kenet

Neisseria gonorrhoeae

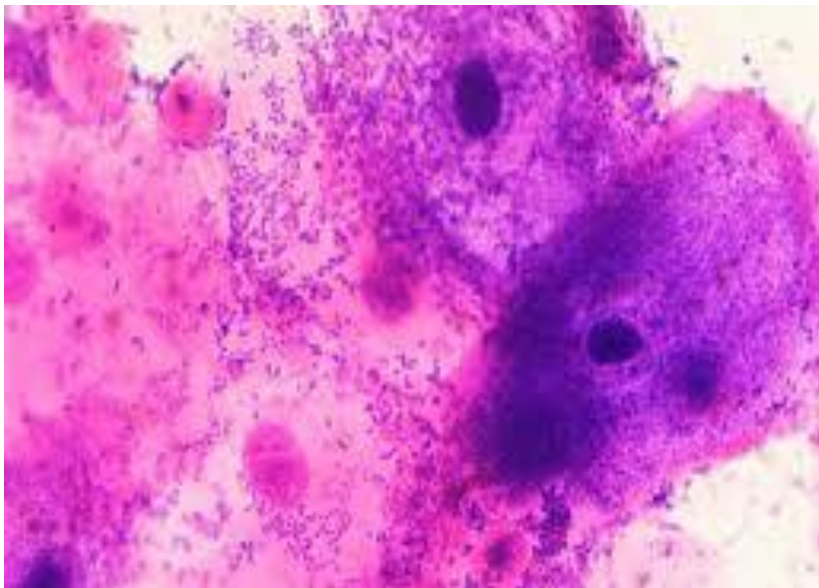


▣ NGU/PGU (*Chlamydia trachomatis*,
Mycoplasma hominis, *M. genitalium*, *Ureaplasma*
urealyticum, *U. parvum*)

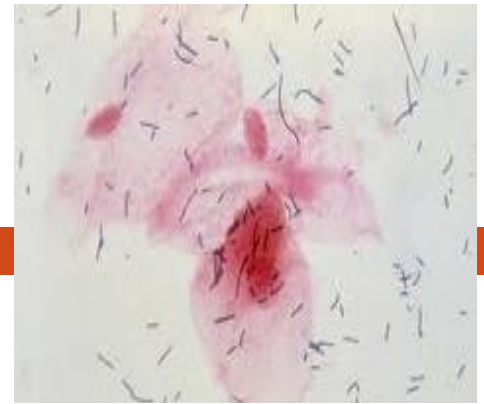
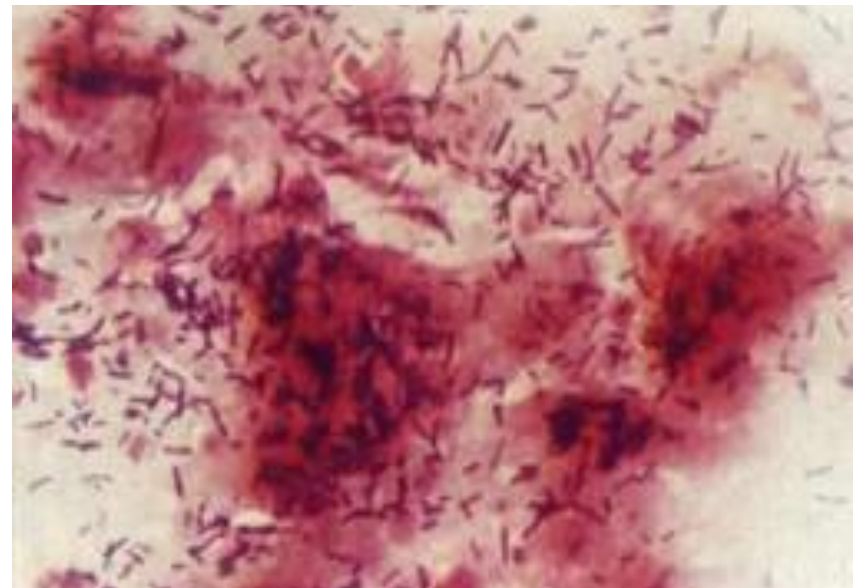


Gram kenet

**Bakteriális
vaginózis**



**Citolítikus
vaginózis**



Bakteriális vaginózis

- Anaerobe kevert fertőzés
 - *Mobiluncus* sp.» halszag
 - *Gardnerella vaginalis* » Virulenciafaktor PMG kemotaxis gátlás
 - *Atopobium vaginae* » Metronidazol Rezisztens

- NINCS *Lactobacillus*, PMG
- Clue-sejtek
 - Baktériummal bevont epithelsejtek
- Lúgos pH

Citolitikus vaginózis

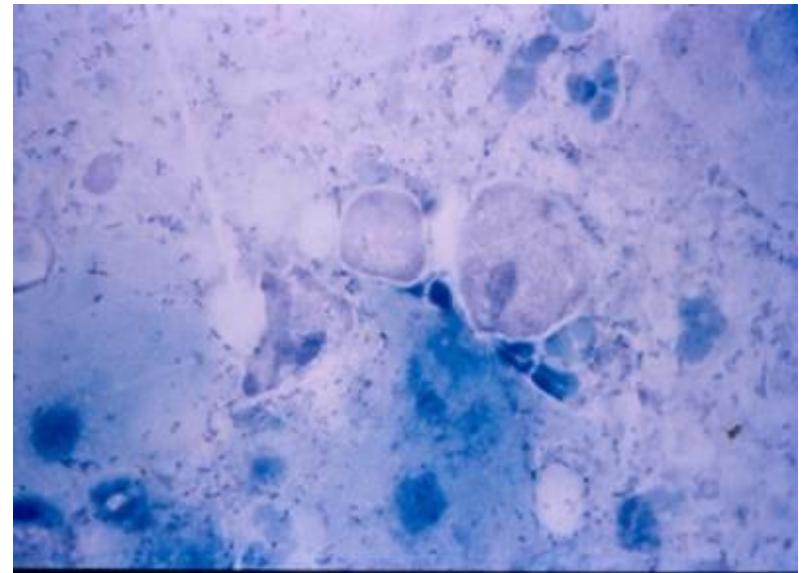
- Erősen savas pH
- Sok lactobacillus
- Széteső epithel sejtek, vérzés

Gram kenet / Metilénkék festés

Soor/Candidiasis



Trichomoniasis

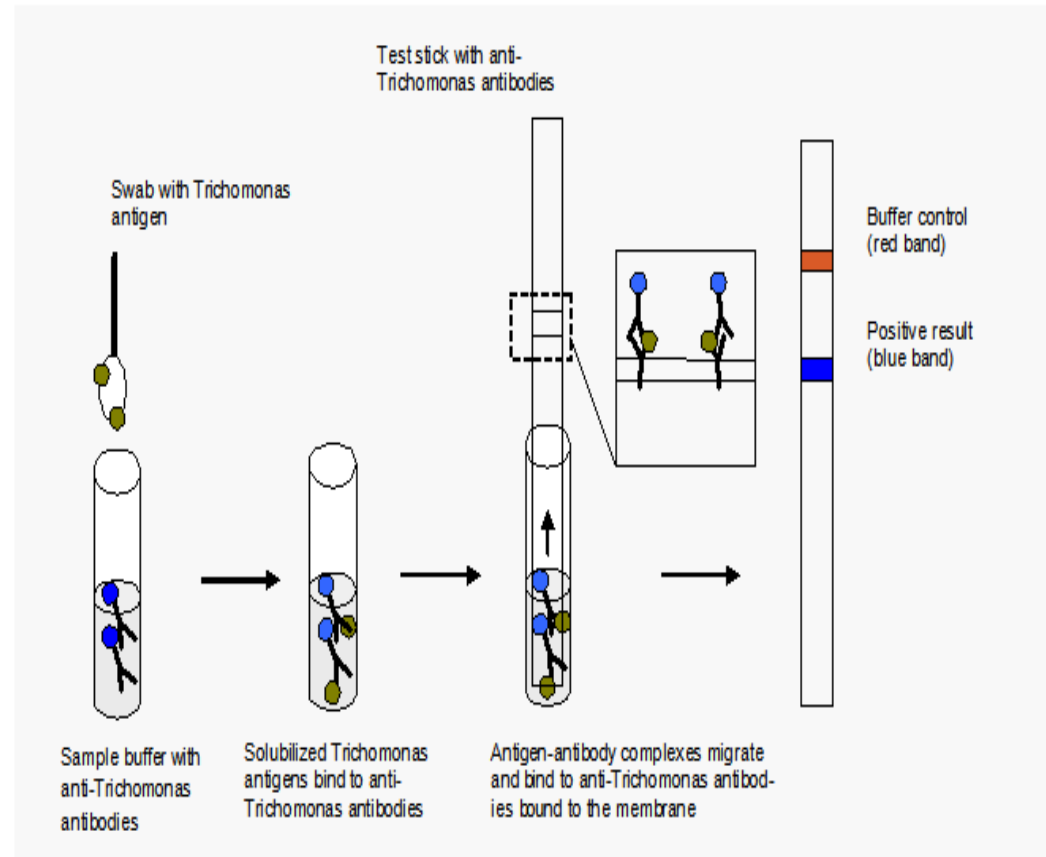


Tenyésztés CPLM táptalajon

- Anaerob folyékony táptalaj
- Anaerob viszonyokat zöld szín jelzi
- Ha kisárgul, nem használható
- Ha tenyészik benne valami, akkor is kisárgul
- Lapos csepp

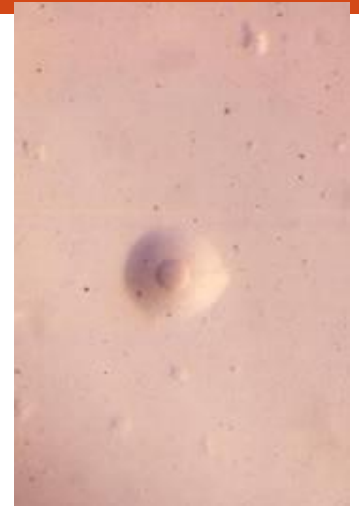


Trichomonas Ag kimutatás



Ureaplasma / Mycoplasma

- *Tenyésztés szilárd táptalajon (A7)*
- *Táptalajba belenő*
- *Táptalaj fonákján látható telepek*
- *Csak nagyítóval látható*
- *Microaerophil környezet*



Ureaplasma/Mycoplasma

- Tenyésztés folyékony közegben
- Biokémiai identifikáló tenyésztés
 - Ureaplasmaék ureáz aktivitás
 - Mycoplasma hominis arginin bontás
 - Ureaplasma spec.
 - U. parvum: urealyticum
 - tünetes 7:1
 - tünetmentes 5:1 (20/4%)
 - perinatális inf., bronchopulmonalis dysplasia
- M. genitalium arginin negatív, így nem kimutatható



Ureaplasma/Mycoplasma tenyésztés és PCR érzékenysége

Liquid medium			Solid medium			Myco/Urea PCR	N
24h	48h	72h	24h	48h	72h		
neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	133
neg	neg	neg	neg	neg	neg	pos*	5
neg	neg	pos	neg	neg	neg	pos	4
neg	pos	pos	pos	pos	pos	pos	1
neg	pos	pos	neg	pos	pos	pos	106
neg	pos	pos	neg	neg	pos	pos	5
neg	pos	pos	neg	neg	neg	pos	24
pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	3
pos	pos	pos	neg	pos	pos	pos	7
7.7%	94.2%	96.8%	2.6%	75.5%	78.7%	100%	

Biztos diagnózis PCR

- Faj meghatározás
- Szenszitivitás

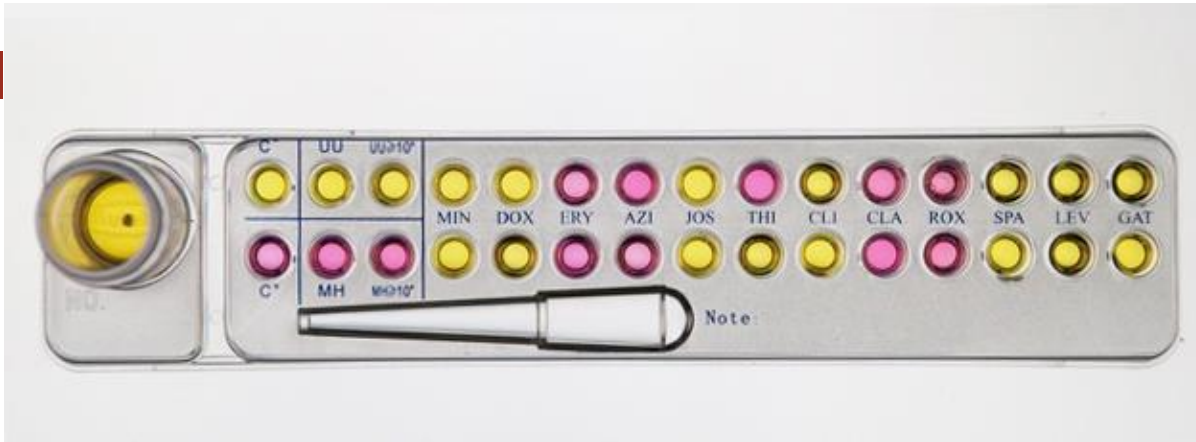
Tenyésztés szilárd táptalajon gyakran sikertelen

Tenyésztés folyékony közegben

- 72 h 96,8%
- Nincs pontos fajmeghatározás
- **Antibiogram!**

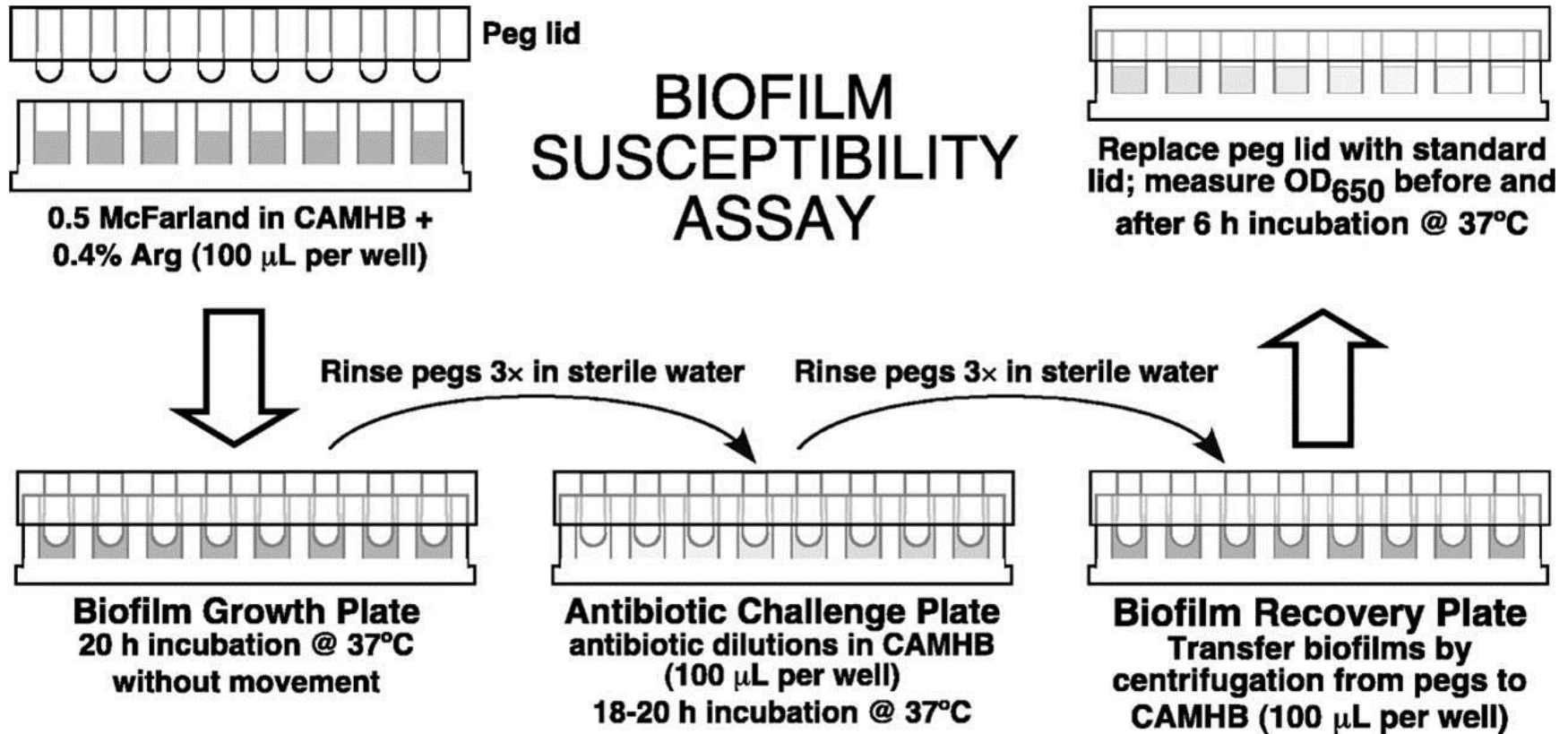
<http://www.studies.copanusa.com/>

Antibiotikum érzékenység meghatározás



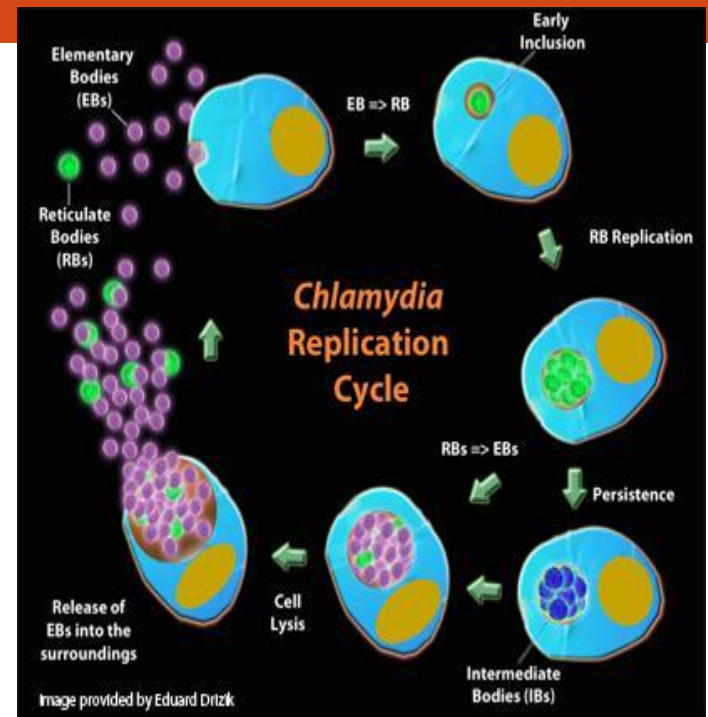
- Biokémiai aktivitás különböző antibiotikumok mellett
- Planktonikus baktériumok
- Biofilm – Clarithromycin, Azithromycin
 - Garcia-Castillo et al, JAC, 2008
 - Pandelidis et al, Pediatric Inf Dis J, 2013

Biofilm antibiotikum érzékenységi vizsgálata



Chlamydia trachomatis

- D-K szerovariáns
 - NGU
- L1-3 szerovariáns
 - lymphogranuloma venereum
 - 3 stádium, szisztémás megbetegedés

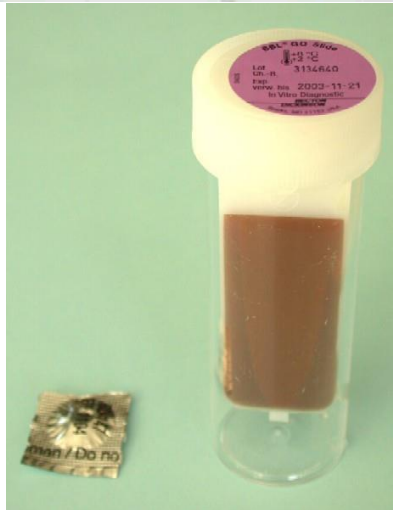


Diagnózis

- Rutin laboratóriumban nincs tenyésztésre lehetőség!
 - DIF
 - Ag kimutatás ELISA
 - PCR
 - Kromoszómális DNS és/vagy kriptikus plazmid
 - Plazmid magasabb szenzitivitás
 - Skandináv mutáció plazmid vesztés
- Ag ELISA és PCR kitek nem tesznek különbséget szerotípusok között
 - Omp1 gén PCR (szekvenálás, RFLP)
 - RT PCR 11 különböző próba (D-K, L1-3) (Jalal et al, JCM, 2006)
- Szerológia
 - Csak invazív fertőzésekben jelentkezik mérhető At termelődés
 - Neonatalis pneumonia IgM
 - LGV IgG, IgA (hiánya nem kizáró!)

N. gonorrhoeae Minta szállítás

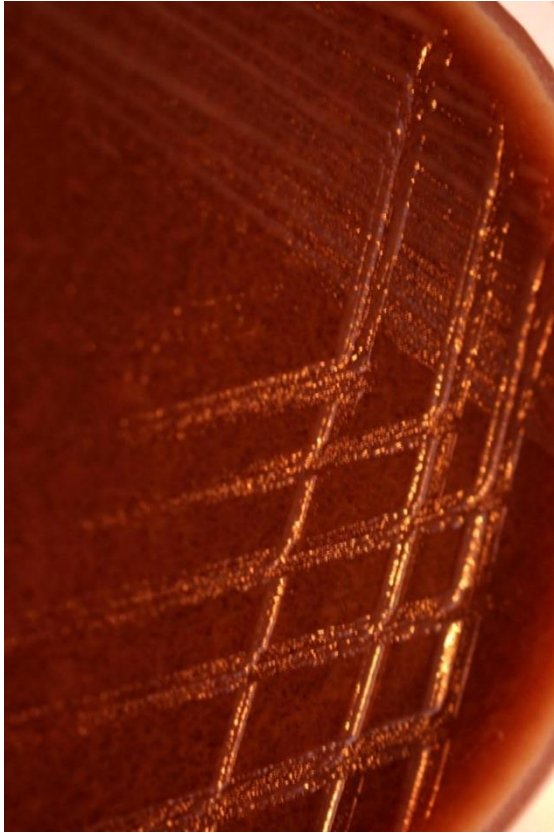
Tenyésztés



PCR

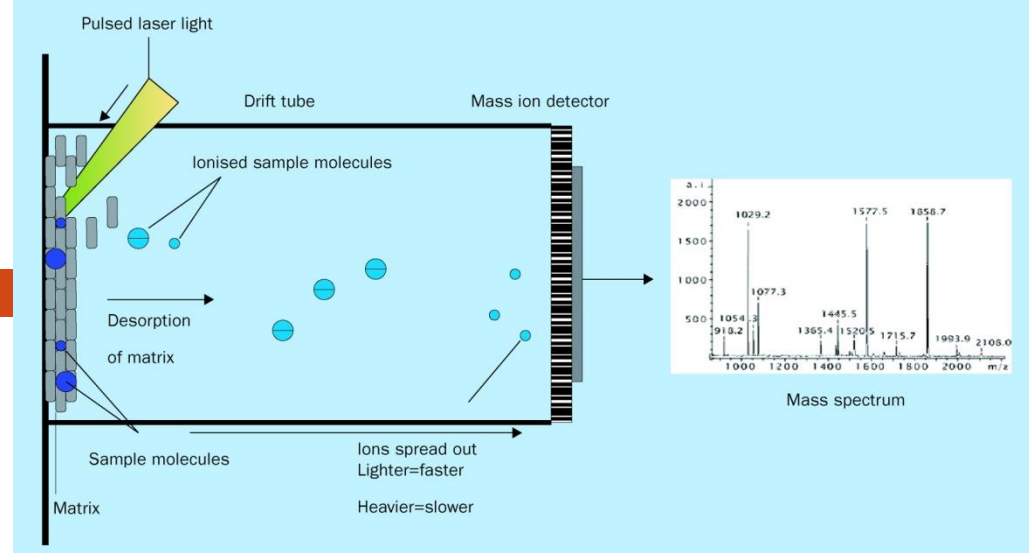


Tenyésztés



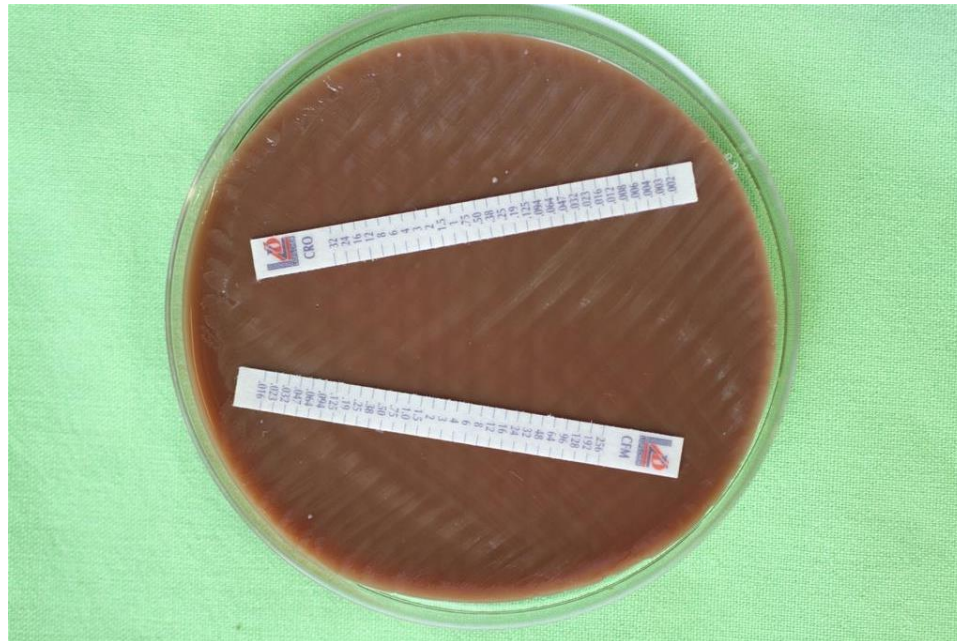
- **Leoltás közvetlenül a betegből előmelegített táptalajra**
- **VCAT3 agar (vancomycin, colistin, amphotericin B, trimethoprim)**
- **Vancomycin mentes GC táptalajra is párhuzamosan**
- **48-72 óra, 35 C°, 5% CO₂**
- **Nincs szállítás (94% eredményesség)**

MALDI-TOF



Antibiotikum rezisztencia vizsgálat

- MIC vizsgálat
- Értékelés EUCAST szerint (European Committee on Antimicrobial Sensitivity Testing)
- E-teszt



Disc diffusion criteria for antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae* have not yet been defined and an MIC method should be used. If a commercial MIC method is used, follow the manufacturer's instructions.

Penicillins ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Benzylpenicillin	0.06	1	1. Always test for beta-lactamase. If positive, report resistant to benzylpenicillin, ampicillin and amoxicillin. The susceptibility of beta-lactamase negative isolates to ampicillin and amoxicillin can be inferred from benzylpenicillin.
Ampicillin¹	Note ¹	Note ¹	
Ampicillin-sulbactam	IE	IE	
Amoxicillin¹	Note ¹	Note ¹	
Amoxicillin-clavulanic acid	Note ¹	Note ¹	
Piperacillin	-	-	
Piperacillin-tazobactam	-	-	
Ticarcillin	-	-	
Ticarcillin-clavulanic acid	-	-	
Phenoxymethylpenicillin	-	-	
Oxacillin	-	-	
Cloxacillin	-	-	
Dicloxacillin	-	-	
Flucloxacillin	-	-	
Mecillinam (uncomplicated UTI only)	-	-	

Neisseria gonorrhoeae

EUCAST Clinical Breakpoint Table v. 5.0, valid from 2015-01-01

Cephalosporins	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Cefaclor	-	-	
Cefadroxil	-	-	
Cefalexin	-	-	
Cefazolin	-	-	
Cefepime	-	-	
Cefixime	0.125	0.125	
Cefotaxime	0.125	0.125	
Cefoxitin	-	-	
Cefpodoxime	-	-	
Cefuroxime	-	-	
Cefazidime	-	-	
Cefibuten	-	-	
Cefbiprole	-	-	
Ceftriaxone	0.125	0.125	
Cefuroxime iv	-	-	
Cefuroxime oral	-	-	

Carbapenems	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Doripenem	IE	IE	
Ertapenem	IE	IE	
Imipenem	IE	IE	
Meropenem	IE	IE	

Monobactams	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Aztreonam	IE	IE	

Neisseria gonorrhoeae

EUCAST Clinical Breakpoint Table v. 5.0, valid from 2015-01-01

Fluoroquinolones	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Ciprofloxacin	0.03	0.06	
Levofloxacin	IE	IE	
Moxifloxacin	IE	IE	
Nalidixic acid (coreen)	NA	NA	
Norfloxacin	IE	IE	
Ofloxacin	0.125	0.25	

Aminoglycosides	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Amikacin	-	-	
Gentamicin	-	-	
Netilmicin	-	-	
Tobramycin	-	-	

Glycopeptides	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Telaprevin	-	-	
Telavancin	-	-	
Vancomycin	-	-	

Neisseria gonorrhoeae

EUCAST Clinical Breakpoint Table v. 5.0, valid from 2015-01-01

Macrolides, lincosamides and streptogramins	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Azithromycin	0.25	0.5	
Clarithromycin	-	-	
Erythromycin	-	-	
Roxithromycin	-	-	
Telithromycin	-	-	
Clindamycin	-	-	
Quinupristin-dalfopristin	-	-	

Tetracyclines ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Doxycycline	IE	IE	1. Isolates susceptible to tetracycline are also susceptible to minocycline, but some isolates resistant to tetracycline may be susceptible to minocycline.
Minocycline	IE	IE	
Tetraacycline	0.5	1	
Tigecycline	IE	IE	

Miscellaneous agents	MIC breakpoint (mg/L)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints
	S ≤	R >	
Chloramphenicol	-	-	
Colistin	-	-	
Daptomycin	-	-	
Fosfomycin IV	-	-	
Fosfomycin oral	-	-	
Fusidic acid	-	-	
Linezolid	-	-	
Metronidazole	-	-	
Mupirocin	-	-	
Nitrofurantoin (uncomplicated UTI only)	-	-	
Rifampicin	-	-	
Spectinomycin	64	64	
Trimethoprim (uncomplicated UTI only)	-	-	
Trimethoprim-sulfamethoxazole	-	-	

Antibiotikum rezisztencia mechanizmusok

- **β-laktám**
 - **Plazmid kódolt β-laktamáz (16%)**
 - TEM-1 β-laktamáz
 - Nitrocefín
 - **Kromoszómális (3.gen Cef.)**
 - *penA* → PBP-2
 - *mtr* → aktív efflux
 - *penB* → porin csatorna, permeabilitás csökken
- **Tetracyclin**
 - **Kromoszómális**
 - *penB* → porin csatorna, permeabilitás csökken
 - *mtr* → aktív efflux
 - S10 riboszómális fehérje 57. aminosav val/met
 - **Plazmid kódolt**
 - *tetM* → MIC > 16 mg/l
- **Kinolon**
 - **Kromoszómális**
 - Permeabilitás csökkenés
 - Efflux
 - *GyrA*, *ParC* mutációk
 - **Azithromycin**
 - *mtr* efflux mechanizmus
 - riboszómális kötőhely metilációja
 - **Spectinomycin**
 - 16S *rRNA* pontmutáció riboszómális kötőhely változás

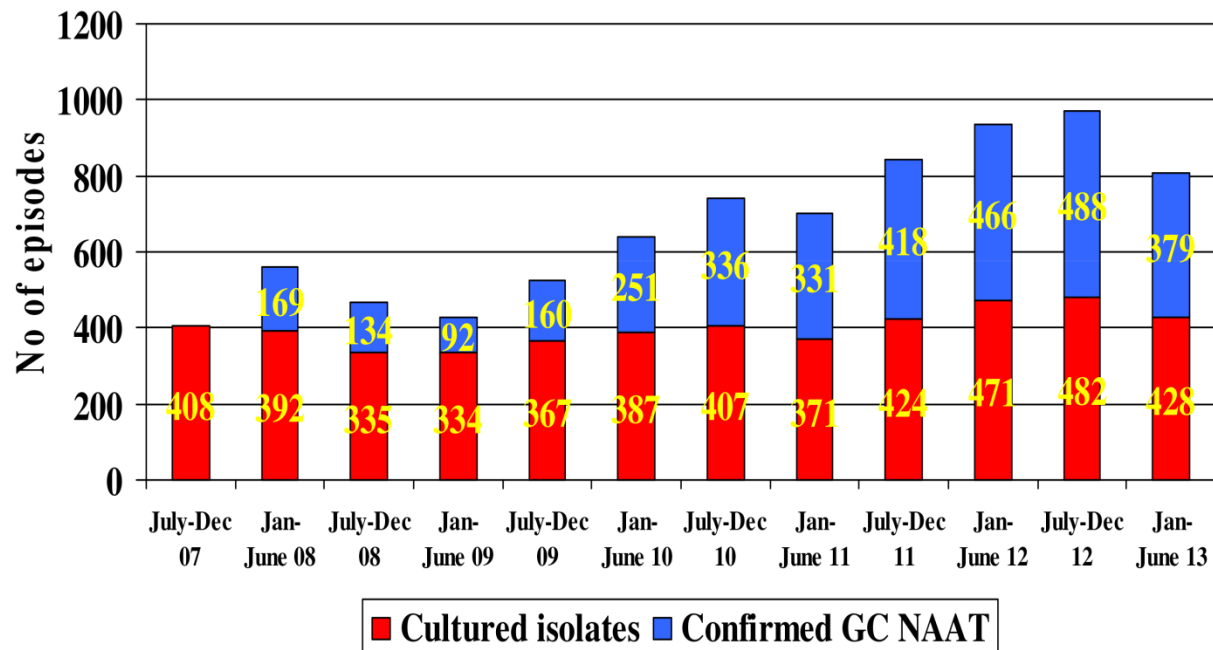
N. gonorrhoeae antibiotikum rezisztencia

Antibiotikum	2010	2011	2012	2013
Azithromycin	0	0,81	6,96	15,86
Cefixim	0	0	0	0,53
Ceftriaxon	0	0	0	0
Ciprofloxacin	70,45	61,67	64,56	67,24
Penicillin	75,35	76,24	77,25	79,51
Spectinomycin	0	0	0	0
Tetracyclin	88,1	87,5	82,91	85,52

- Brunner A, Nemes-Nikodem E, Mihalik N, Marschalko M, Karpati S, Ostorhazi E: Incidence and antimicrobial susceptibility of *N. gonorrhoeae* isolates from patients attending the National Neisseria gonorrhoeae reference laboratory of Hungary. BMC Infect Dis. 2014 Aug 6;14:433. doi: 10.1186/1471-2334-14-433.

Scottish Bacterial Sexually Transmitted Infections Reference Laboratory (SBSTIRL) User Report

Episodes of gonorrhoea (isolates and NAAT specimens) submitted to SBSTIRL by six month period: 2007 to 2013



Ng-MAST

Iona MCM, Ison CA, Aanensen, DM, Fenton KA , Spratt GB. Journal of

Infectious Diseases 2004; 189:1497–505

- *porB* 737 bp: MS11 455. nt-tól 490 bázis» *por* allél
 - for:CAA GAA GAC CTC GGC AA
 - rev:CCG ACA ACC ACT TGG T

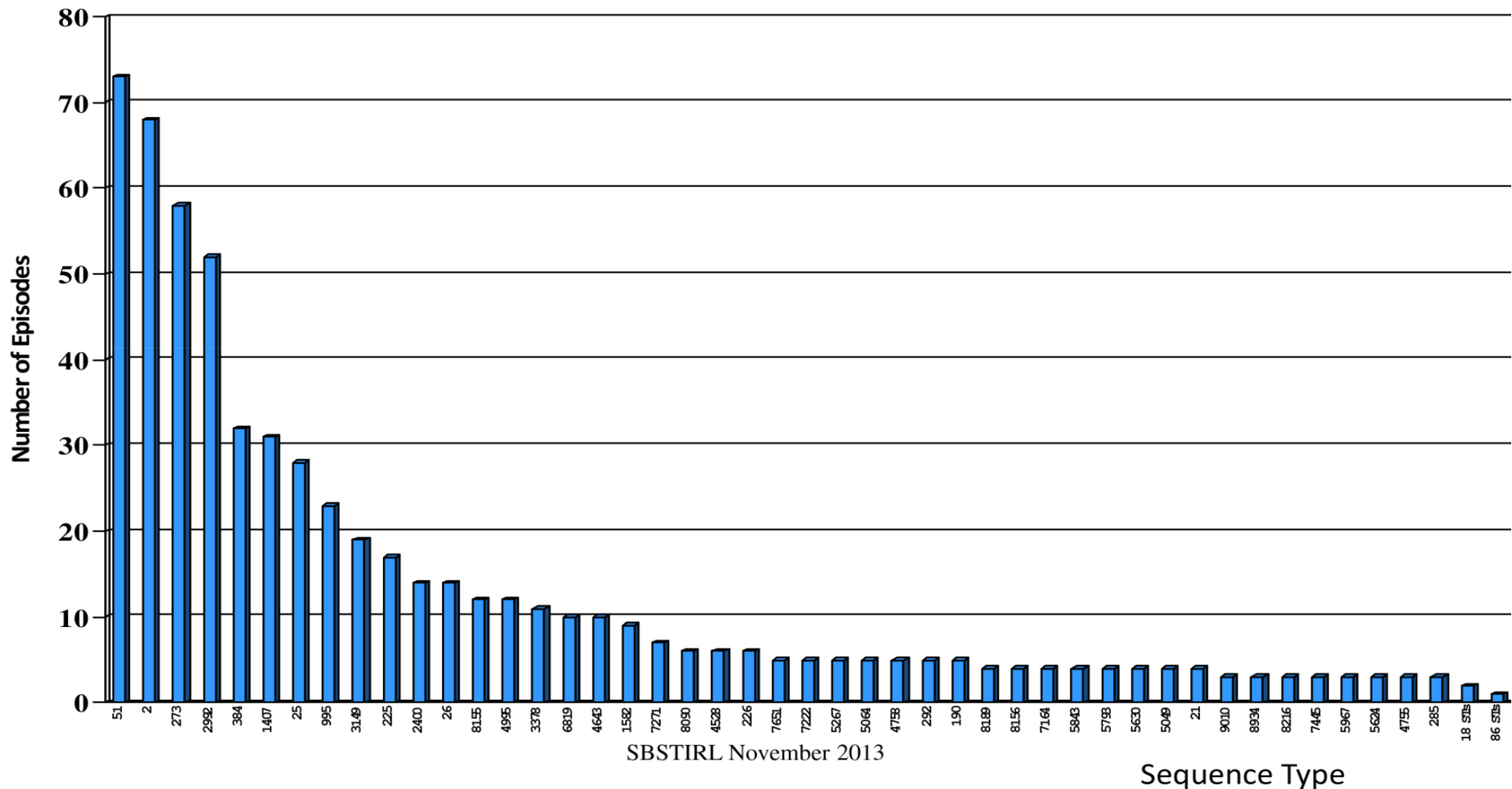
- *tbpB* 589 bp: UU1008 1118 nt 390 bázis » *tbpB* allél
 - for:CGT TGTCGG CAG CGC GAA AAC
 - rev:TTCATC GGT GCG CTC GCC TTG

- www.ng-mast.net

- *porB-tbpB* párosítások» Szekvencia típus (ST)

Scottish Bacterial Sexually Transmitted Infections Reference Laboratory (SBSTIRL) User Report

Sequence type distribution by occurrence - Jan-June 2013



Európai Surveillance Programme (EURO-GASP)

- Európa országaiból összegyűjtött 1066 törzs adatainak vizsgálata
 - Antibiotikum érzékenység
 - NG-MAST ST meghatározás

- Csak 17 magyar törzs,
- Kelet Európa
 - Románia 9 törzs

- Kevés minta miatt a statisztikai számításokból ezeket az adatokat kihagyták

- Molecular epidemiological typing within the European Gonococcal Antimicrobial Resistance Surveillance Programme reveals predominance of a multidrugresistant clone (Chrisholm SA, Unemo M, Quaye N, Johansson E, Cole M J, Ison C A, Van de Laar M JW . Euro Surveill. 2013;18(3):pii=20358

Eurosurveillance eredmények

- Leggyakrabban előforduló ST: ST1407 (16%, genogroup 1407:23%)
- ST 1407
 - gyakori cefixim rezisztencia (71%)
 - Nincs ceftriaxon rezisztens (MIC>0,12mg/l), de emelkedettebb értékek
 - Azithromycin érzékeny törzsek
- Következtetés:
 - IUSTI (International Union of Sexually Transmitted Infections) ajánlást kell követni a kezelésben
 - Cefixim adása többé nem ajánlott
 - 500 mg Ceftriaxon im+ 2000 mg Azithromycin per os

Gyakran előforduló törzsek

Eurosurveillance

	ST	%
1.	1407	23
2.	2992	7
3.	225	5
4.	25	2
5.	387	1
6.	359	1

Saját vizsgálatunk

	ST	%
1.	2992	20
2.	1407	18
2.	4995	18
4.	225	8
5.	8517	4
6.	359	4

[Antimicrobial susceptibility and genotyping analysis of Hungarian Neisseria gonorrhoeae strains in 2013.](#) Nemes-Nikodém E, Brunner A, Pintér D, Mihalik N, Lengyel G, Marschalkó M, Kárpáti S, Szabó D, Ostorházi E. Acta Microbiol Immunol Hung. 2014 Dec;61(4):435-45.

Különböző ST-k antibiotikum érzékenysége

- Európai ST 1407
 - Cefixim rezisztens 71%
 - Ceftriaxon érzékeny 100%, de emelkedett MIC
 - Azithromycin érzékeny 83%

- Saját törzseink?

ST-Antibiotikum rezisztencia 2013

ST	%	Azithromycin	Cefixim	Ceftriaxon	Ciprofloxacin	Spectinomycin	Tetracyclin
2992	20	70% R	É	É	É	É	90% R
1407	18	78% R	11% R	É MIC!	100% R	É	100% R
4995	18	22% R	É	É	100% R	É	100% R
225	8	50% R	É	É	100% R	É	100% R
8517	4	É	É	É	É	É	100% R
359	4	É	É	É	É	É	100% R

Azithromycin fokozott felhasználás

- ▣ IUSTI ajánlás 2012. december
- ▣ 500 mg Ceftriaxon im+ 2000 mg Azithromycin per os
- ▣ 2010. » 2013. »2015. 0%»15,86%» 52,2%
Azithromycinre nem érzékeny *N. gonorrhoeae* törzsek aránya

Multiplex PCR

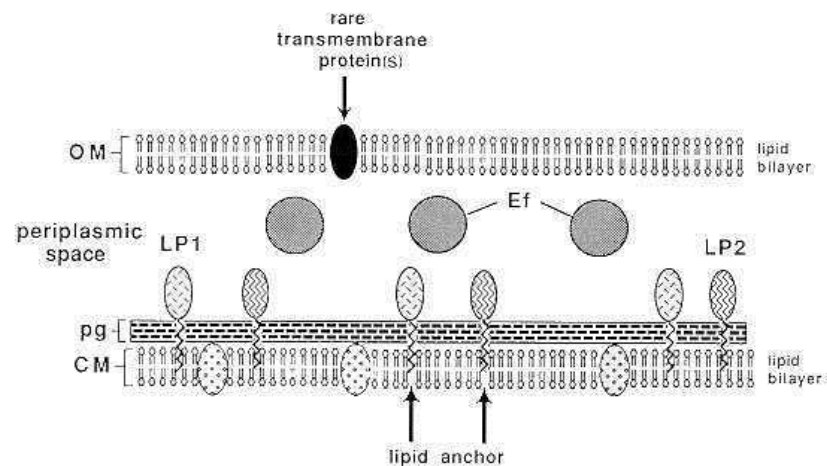
- Egy vizsgálati anyagból több kórokozó egyidejű kimutatása
- Koinfekciók, kombinált terápia
- Rezisztenciáról nem ad információt
- Drága
- Kórokozó elpusztítása után is pozitív még (nem feltétlenül rezisztens kórokozó)

Multiplex PCR

Name	FAM		HEX		Cal Red 610		Quasar 670		Auto Interpretation
	UU	UP	MG	MH	NG	CT	TV	IC	
6163	-	+	-	+	-	-	-	+	UP & MH
6162	-	-	+	-	-	-	-	+	MG
6220	-	+	-	-	-	-	-	+	UP
6212	-	-	-	-	-	-	-	+	-
6192	-	+	-	-	-	-	-	+	UP
6203	-	+	-	-	-	-	-	+	UP
6208	+	+	-	+	-	-	+	+	UU & UP & MH & TV
6235	-	+	-	-	-	-	-	+	UP
	-	-	-	-	+	-	+	+	NG & TV
6259	-	-	-	-	-	-	-	+	-
6260	-	+	-	-	-	-	-	+	UP
6273	-	+	-	-	-	-	-	+	UP
6312	-	+	-	-	-	-	-	+	UP
6318	-	+	-	-	+	+	-	+	UP & NG & CT
	-	-	-	-	-	-	-	-	Negative Control(-)
PC	+	+	+	+	+	+	+	+	Positive Control(+)

Syphilis *Treponema pallidum*

- ▣ Obligát anaerob
- ▣ Sok apró csavarulat,
- ▣ 15 μ x 0,25 μ ,
- ▣ Gram festéssel nem látható
- ▣ Külső membrán fehérjék Trompl, Trompll, Tromplll
- ▣ Belső fehérjék 15kDa, 17kDa, 45.5kDa, 47kDa...



Belső fehérjék

- Endoflagellum
- Citoplazma membrán
- Citoplazma alkotórészeinek fehérjéi

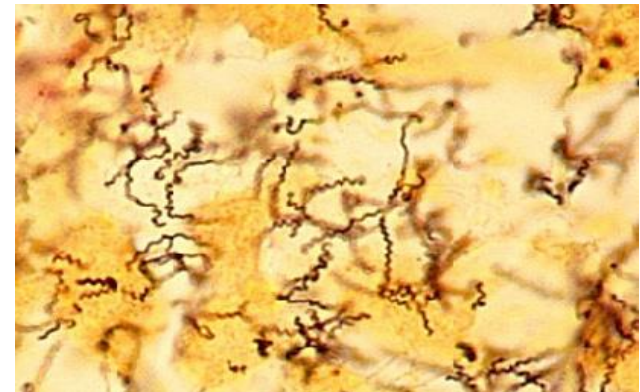
- Spirochaetákra jellemzőek
 - Treponema nemzetségre jellemzőek
 - 15, 17, 45.5, 47, 86, 110 kDa T.p-ra jellemző
- Specifikus ellenanyag
 - Diagnosztikum
 - Nem véd

Treponema pallidum

- Virulencia faktor: Mukopoliszacharidáz a végeken
- Epithel és endothel sejtek MP-hoz kötődik
- Roncsolja a citoplazma membránt, illetve intracellulárisan a mitokondrium membránját
- Koleszterol, Lecithin, Kardiolipin Ag válik szabaddá (RPR, VDRL)
- Endarteriitis, Periarteriitis» gyulladás, nekrózis
- T-sejt függő késői hyperszenzitivitás »Granuloma
 - Gumma »Térfoglaló folyamat, nyomási tünetek, szöveti destrukció

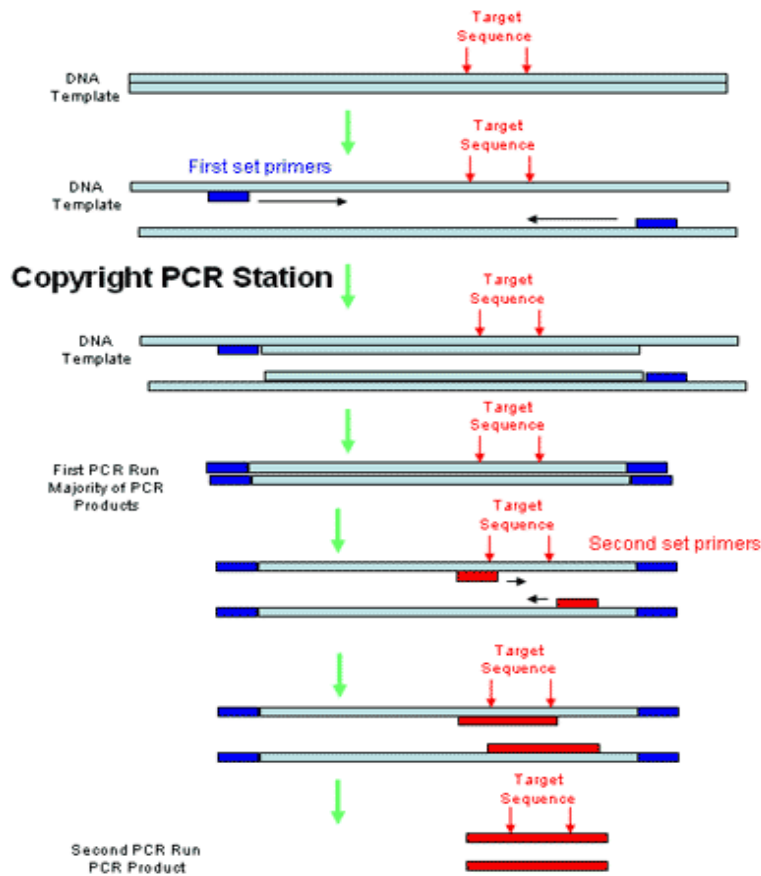
Diagnózis

- Klinikus
 - Anamnesis
 - Tünetek
 - Sötétlátóteres mikroszkóp direkt kimutatás
 - Laboratóriumi eredmények
- Mikrobiológus-Patológus
 - Direkt kimutatás
 - Ezüst impregnáció, direkt immunfluoreszcencia
 - kimetszett szövetből
 - PCR
 - Kimetszett szövet, vér, liquor
 - Urethra, cervix, bőr-,nyálkahártya tünet váladéka
 - Bőrkaparék (fülcimpa) Castro, Int J STD AIDS, 2007
- Mikrobiológus
 - Szerológiai vizsgálatok

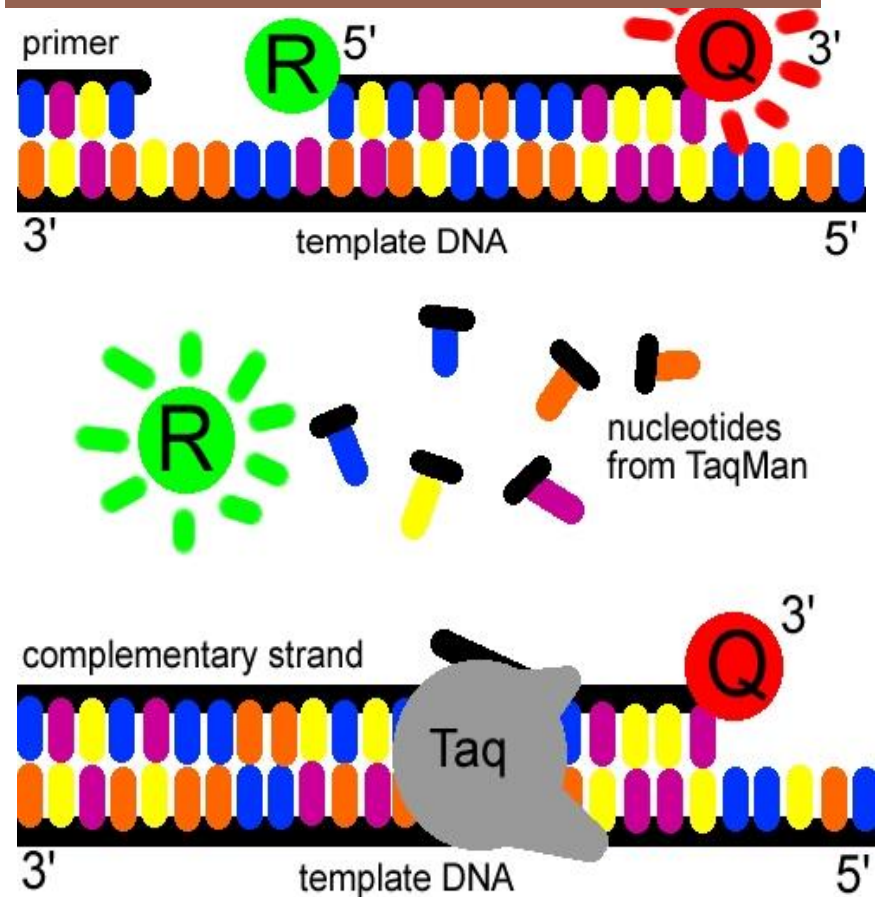


PCR

Nested PCR



RT PCR



PCR (Specificitás: 87-92-99%)

- Nested PCR
 - *polA*
 - *tmpC*
 - *tpp47*
 - *bmp*

- Taq-Man Real Time PCR
 - *polA*
 - *flaA*
 - *tmpA*
 - *tpp47*

PCR szenzitivitás

- Flasarová, Acta Derm Venereol, 2012
 - ulcus durum: 64.7%
 - Teljes vér: 26.8%
 - Serum, liquor, szövet, térd punctatum: 22.2%
- Tipple, STI, 2011:
 - Ulcus durum: 100%
 - teljes vérből: 27.27%
- Heymann, JCM, 2010:
 - Perifériás vér mononucleáris sejtek: 29%
 - Plasma: 18%
 - Szérum: 14.7%
 - Teljes vér: 24%
- Gayet-Ageron, STI, 2009:
 - syphilis /syll
 - Bőr-, nyh.-lézió: 80% / 20%
 - Teljes vér: 28% / 36 %
 - Szérum: 55% / 47 %
 - Vizelet: 29% / 44%

Szerológiai tesztek

Nem-treponemális Ag Aspecifikus / Reagin

- KKR
- VDRL
- RPR

- Cardiolipin, lecitin, cholesterol

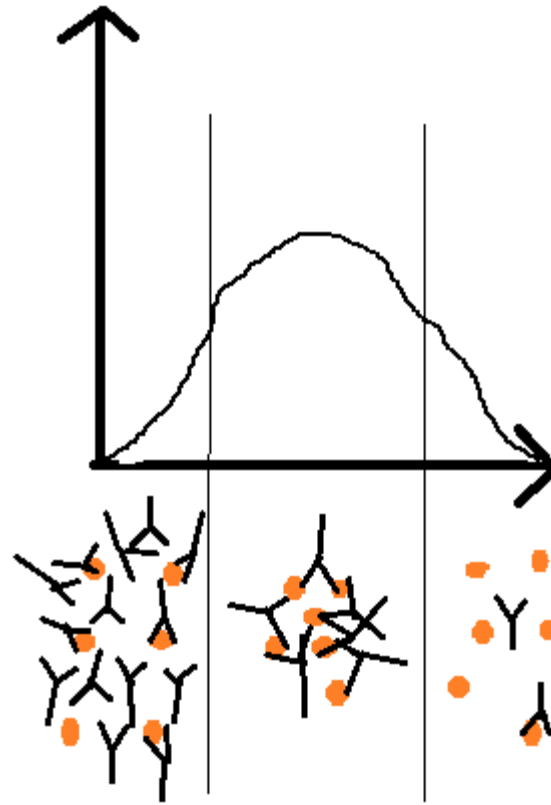
Treponemális Ag (Specifikus reakció)

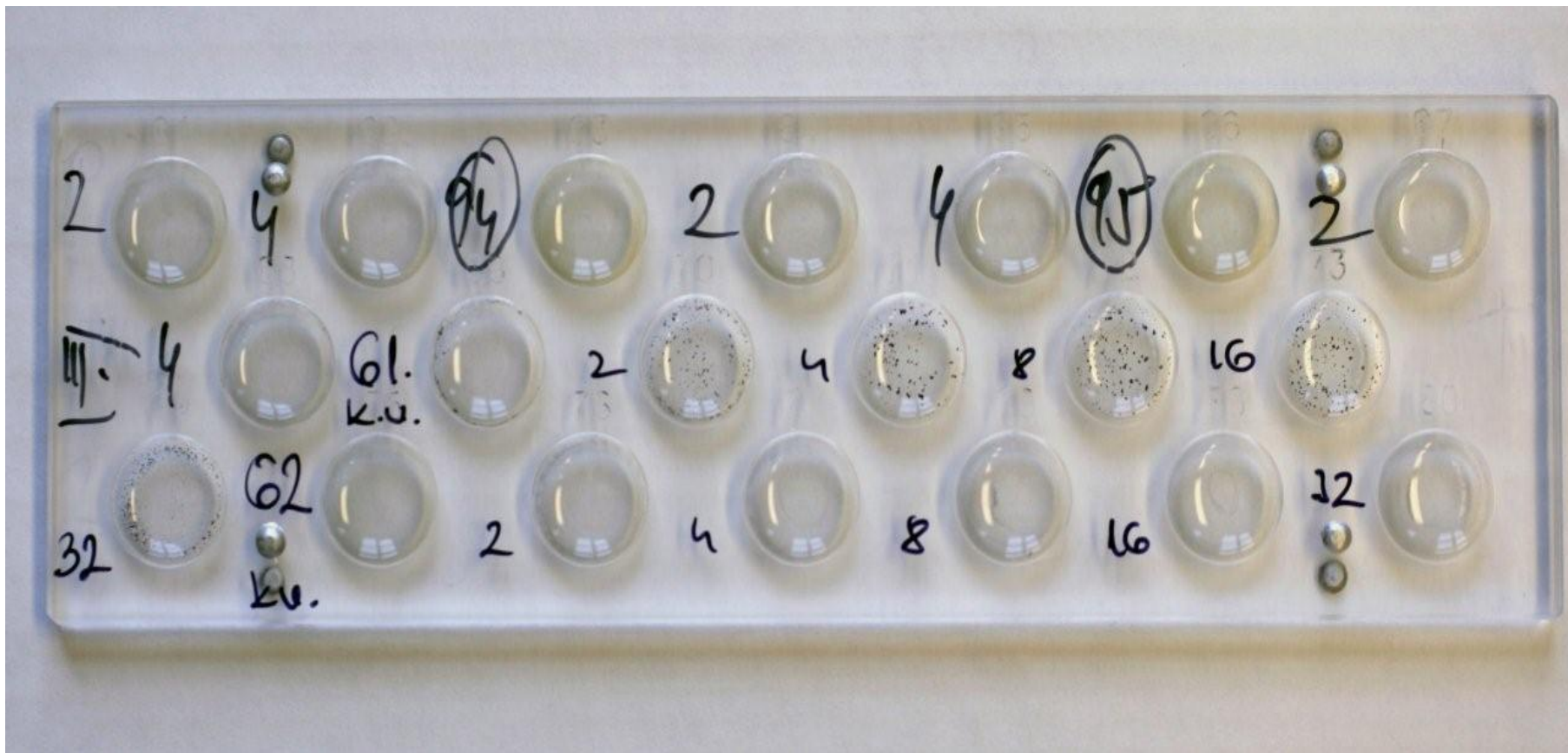
- TPIT
- FTA-Abs
- TPHA, TPPA
- TP-ELISA
- LIA Immunoblot

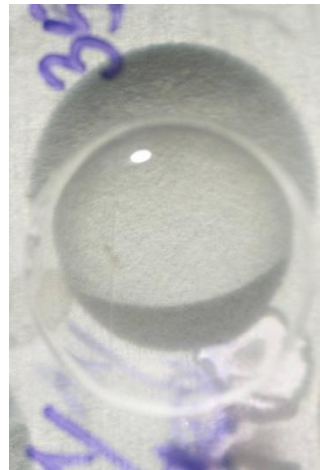
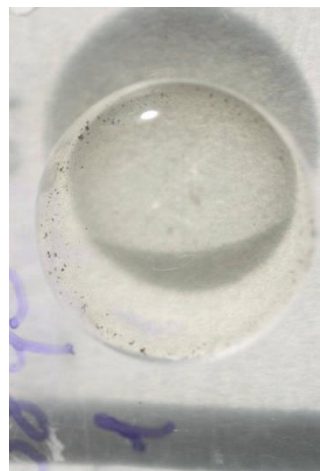
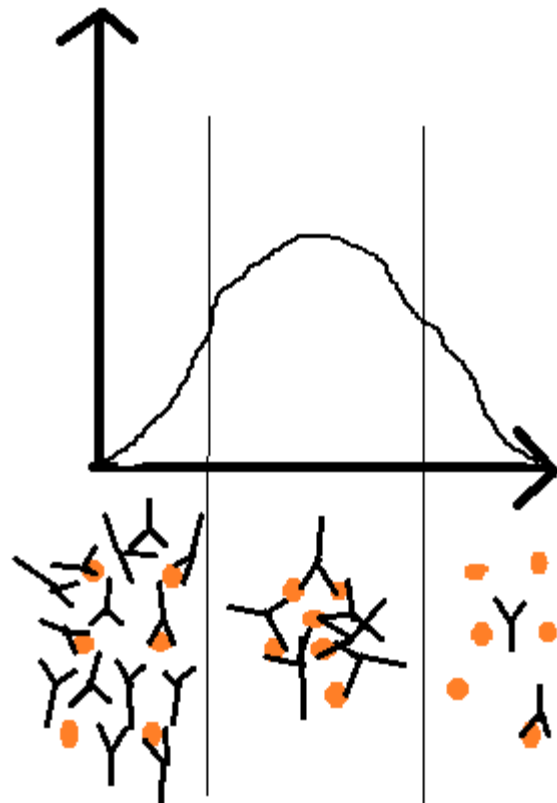
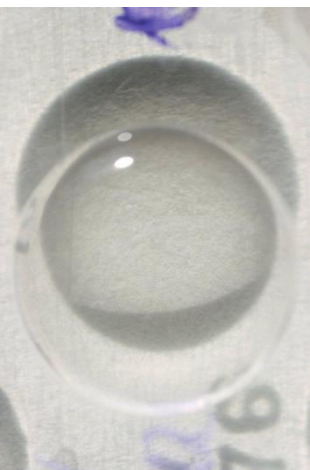
- Treponema pallidum* fehérjék, lipoprotein

Nem –treponemális reakciók

- Széteső eukarióta sejtekből felszabaduló Ag-ek ellen
- Ag: kardiolipin, lecitin, cholesterol
- Folyékony közegben flokkuláció
- Zóna jelenség, ha a szérum At titerre magas alacsony hígításban gyenge összecsapzódás







RPR titrálás

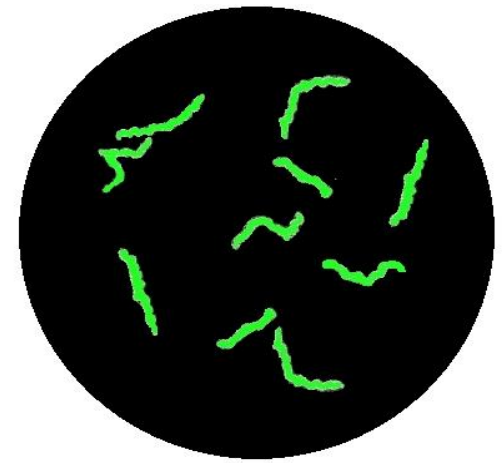
Dátum	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
2008. 07. 11.	2+	3+	4+	4+	3+	2+	1+	0
2008. 10. 13.	4+	4+	3+	2+	1+	0	0	0
2009. 01. 17.	3+	2+	1+	0	0	0	0	0
2009. 07. 20.	3+	3+	2+	2+	1+	1+	0	0

BAP

Biológiailag aspecifikus pozitivitás

- Széteső eukarióta sejtek
 - Terhesség
 - Tumor
 - Autoimmun
 - Vírus fertőzés
 - Sebészi beavatkozás
 - ...
-
- Treponémális reakciók **NEGATÍVAK**

FTA-Abs



- Tárgylemezen feltárt,
fixált *Treponema pallidum*
- A család közös Ag-jei elleni At-ek inaktiválása
T. reiteri Ag-nel
- Abs. utáni beteg savó + antiHumán
fluoreszcensen jelzett ellenanyag (IgM, IgG)
- Legszenzitívebb, legspecifikusabb
- Legkorábban +, nagy Ag-ek miatt

TPHA, TPPA

- *Treponema pallidum* haemagglutináció
- Madár vörösvértest
- *E.coli* Tp15, Tp17, Tp 47 rekombináns

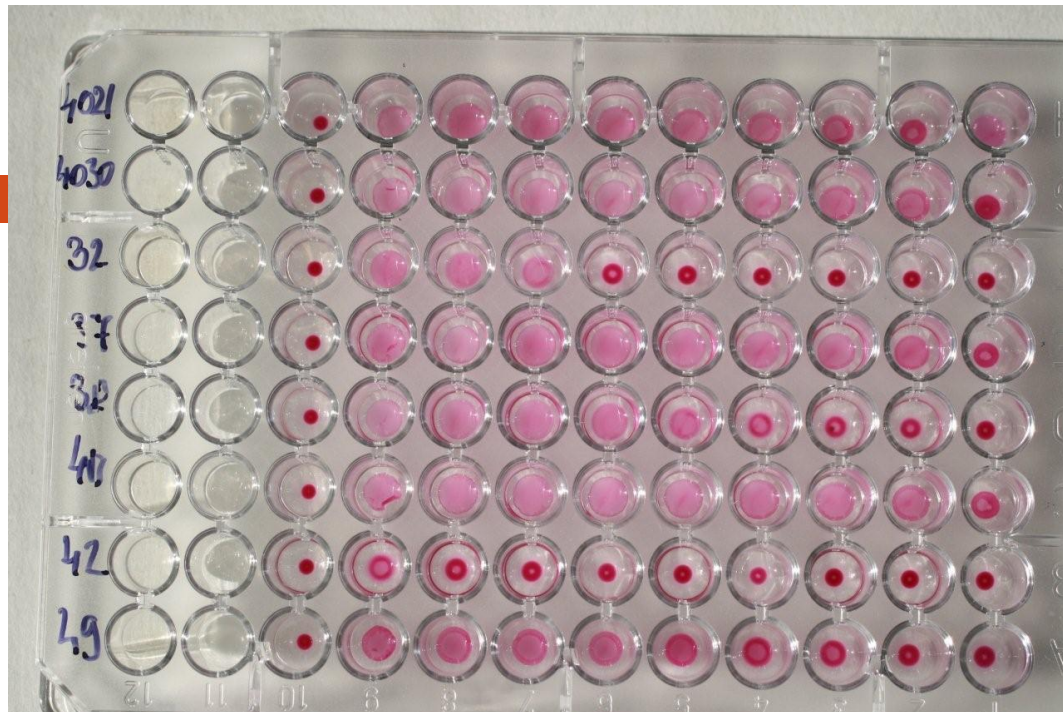
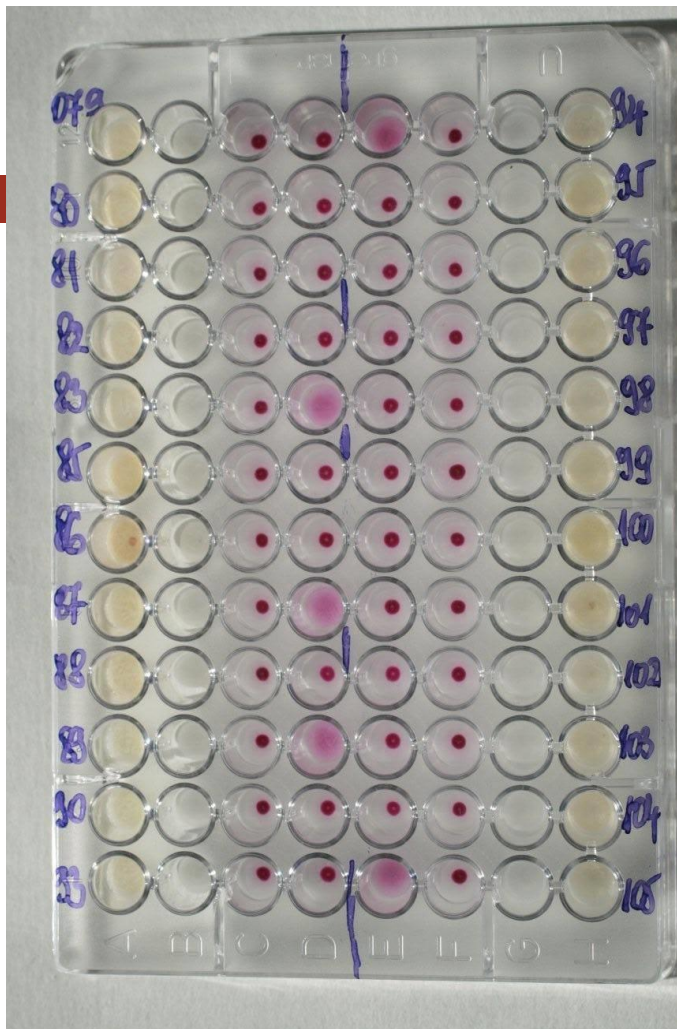
- Neg/Poz (1:80)
- Titer

- IgG, IgM és IgA

- *Treponema pallidum* partikula agglutináció
- Zselatin szemcsék
- *Bacillus subtilis* Tp15, Tp17, Tp47 rekombináns

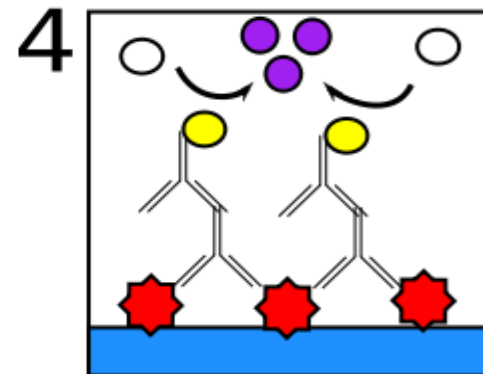
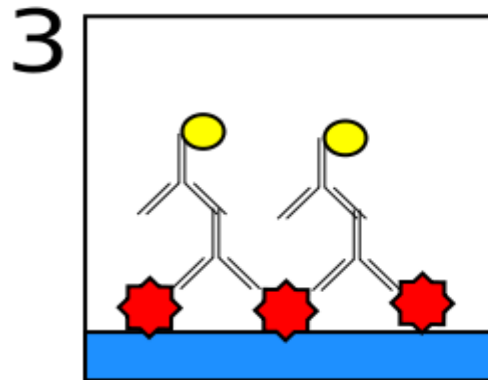
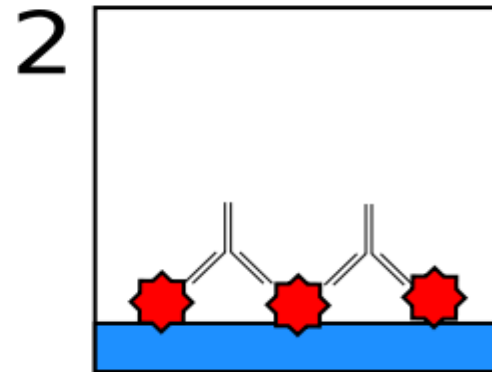
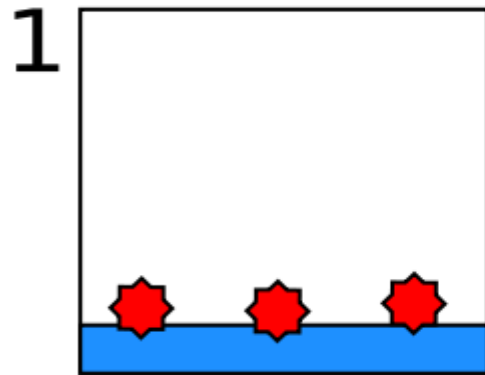
- Neg/Poz (1:80)
- Titer

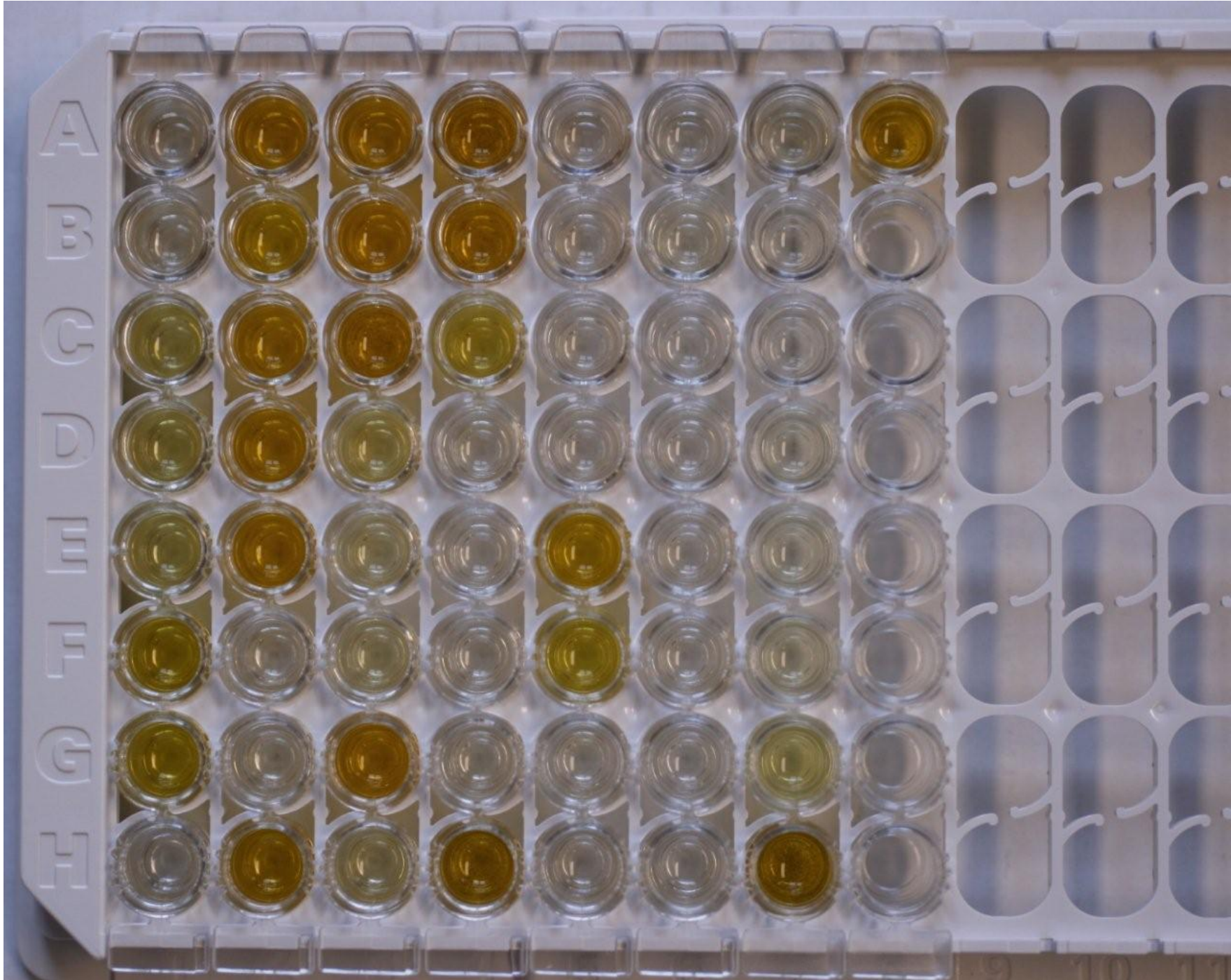
- IgG, IgM és IgA



TP-ELISA

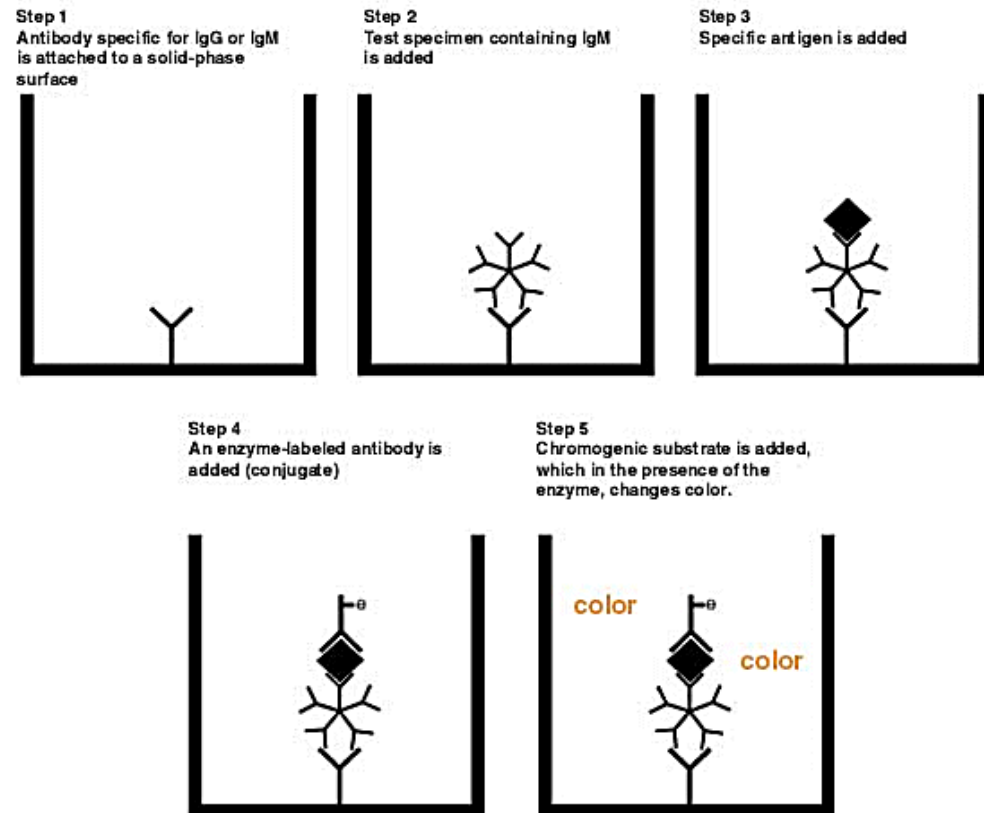
- Rekombináns Ag-ek *Tp15*, *Tp17*, *Tp47*





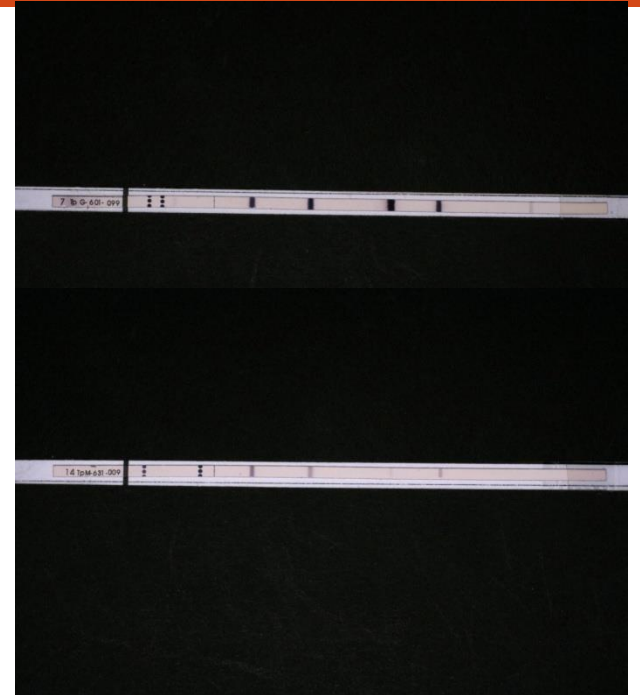
Capture ELISA

- IgM vagy IgG
- Rekombináns Ag-ek



Immunoblot blot vizsgálata

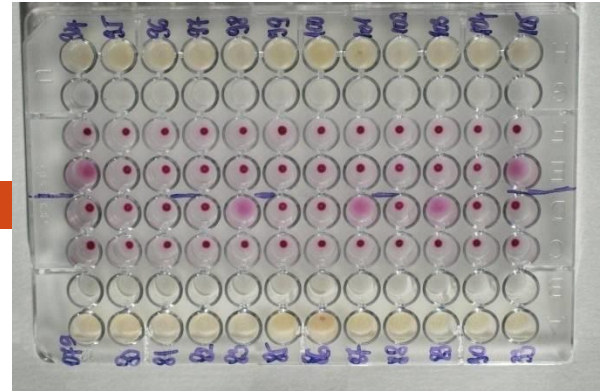
- Immunoblot csík
- 15-47 kDa rekombináns fehérjék
- IgG és IgM csíkok



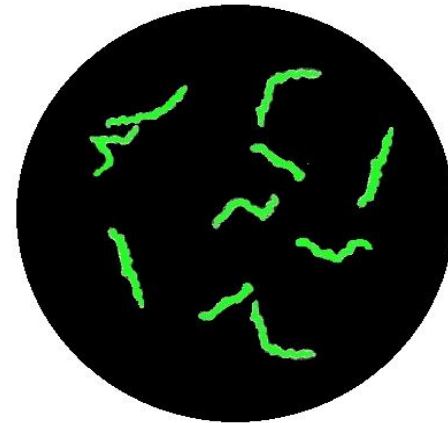
Stádium	RPR/VDRL	TPHA/TPPA	TP-ELISA	Immunoblot
Syphilis1	negatív	pozitív	pozitív	IgM pozitív
Syphilis2	pozitív	pozitív	pozitív	pozitív
Korai latencia	pozitív	pozitív	pozitív	pozitív
Késői latencia	negatív	pozitív	pozitív	IgG pozitív
Syphilis 3	negatív	pozitív	pozitív	IgG pozitív
Korán kezelt Syphilis 1	negatív	negatív	negatív	negatív
Kezelt Syphilis	Csökkenő titer	pozitív	pozitív	IgG pozitív

Szűrővizsgálat

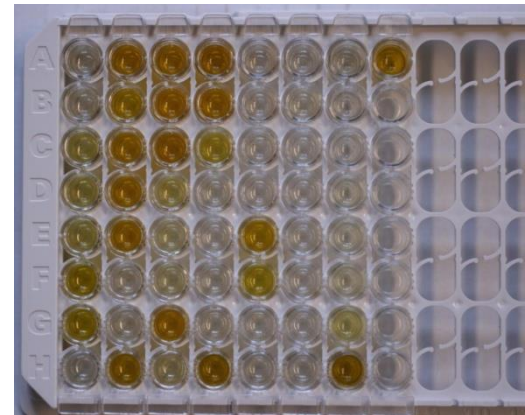
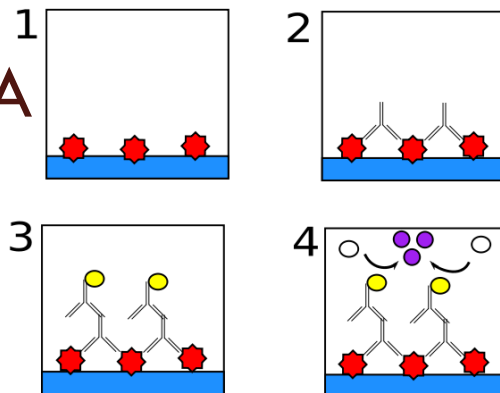
□ TPPA/TPHA



□ FTA-Abs

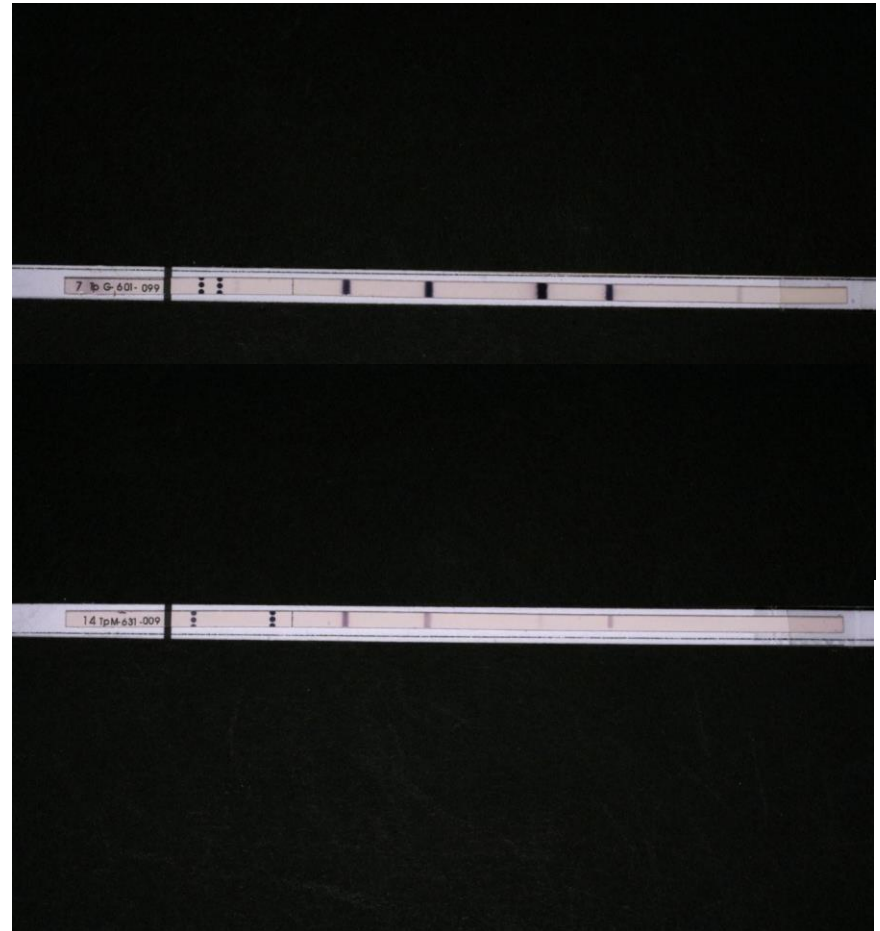


□ Tp-ELISA



Megerősítés / Stádium pontosítás

- Előzőek közül +1
- Immunoblot



RPR/ VDRL

- Stádium meghatározás
 - Terápia követése
 - Reinfekció kimutatás
-
- RPR titer magasabb!

Liquor neurosyphilis szerológiai eredmények

Stádium	VDRL	TPHA/TPPA
Syphilis 1	negatív	pozitív
Syphilis 2	pozitív	pozitív
Korai latencia	pozitív	pozitív
Késői latencia	negatív	pozitív
Syphilis 3	negatív	pozitív

Laboratóriumi vizsgálatok neurosyphilis diagnózishoz

- ❑ Bizonyítani kell, hogy intrathecalisan is van sy ellenes ellenanyag termelődés
- ❑ Liquor üledékben vvt jelenléte értékelhetetlenné teszi a bizonyítást
- ❑ Meningealis érintettség esetén a transsudatiót a liquor albumin tartalom növekedése is jelzi
- ❑ Az intratechalis ellenanyag termelődés az albuminkvócienshez viszonyítva ítéhető meg

Neurosyphilis diagnózis laboratóriumi kritériumai

- Liquor üledék
 - vvt jelenlétében objektíven nem értékelhető
 - fvs > 10/mm³
 - Gram, Ziehl-Nielsen festéssel egyéb kórokozó nem ábrázolódik
- Liquor szerológia
 - TPPA/TPHA vagy FTA-Abs pozitív
 - VDRL+/-
- Intratechalis termelődés igazolása
 - IgG index $(\text{CSF_IgG} / \text{Serum_IgG}) / (\text{CSF_Albumin} / \text{Serum_Albumin}) > 0,7$
 - IgM index $(\text{CSF_IgM} / \text{Serum_IgM}) / (\text{CSF_Albumin} / \text{Serum_Albumin}) > 0,1$
 - TPPA index CSF TPPA titer / (CSF Albumin X 1000 / Serum Albumin) 100 fölött valószínű, 500 fölött biztos neurosyphilis

Congenitalis syphilis

- Anyai IgG a placentán átjut
- Születéskor anya-gyerek szerológiai értékeinek összehasonlítása
- Ha a gyermek RPR titere magasabb, fertőződött
- Ha azonos, vagy kisebb...???, köldökcsomk PCR
- Gyermek követése

IgM kimutatása az újszülöttből

- Anyai IgG ellen termelődött RF
- Ez az immunkomplex specifikusan kötődik az Ag-hez → álpozitív reakció
- Sok gyors anyai IgG nem hagy kötőhelyet a lomha IgM-nek
- Újszülött savót IgG mentesíteni kell



IgG mentesítés

- Talán főzéssel???? (Hőinaktiválás)
- Szedimentációs oszlop
 - ▣ Csak a megfelelő IgM-et tartalmazó frakció felhasználása 19S IgM FTA-Abs
- Immunkémiai módszerrel IgG kicsapása, centrifuga, felülúszó (MastSorb)



Köszönöm a figyelmet