

# SZEXUÁLIS ÚTON TERJEDŐ KÓROKOZÓK DIAGNOSZTIKÁJÁNAK SAJÁTOSSÁGAI

Dr. Ostorházi Eszter

SE LMI STD Diagnosztikai és Infekciószerológiai Laboratórium

2015

# Szexuális úton (is) átvihető fertőző betegségek

## Lokális tünettől 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)

# STD kórokozók

- Környezeti hatásokra rendkívül érzékenyek
  - ▣ Kiszáradásra, Ph változásra, hőmérséklet változásra, CO<sub>2</sub> jelenlétére
- Anaerob baktériumok (légköri O<sub>2</sub> elpusztítja őket)
- Vírusok (élő sejten kívül nem szaporodnak)
  
- Nyálkahártya-nyálkahártya kontaktus
- Nehezen szállíthatóak
- (nehezen tenyésztethetők)

# Lokális tünet

## Húgycső, hüvelyi folyás (dysuria, dyspareunia, pollakisuria)

- *Neisseria gonorrhoea*
- *Chlamydia trachomatis* (D-K)
- egyéb NGU/PGU
  - *Mycoplasma hominis*, *M. genitalium*, *Ureaplasma ureolyticum*, *U. parvum*
- Soor/Candidiasis
- Trichomoniasis
- Bakteriális vaginózis
- Citolítikus vaginózis



## Nemi szerveken megjelenő bőr-, nyálkahártya tünet (fekély, seb, szemölcs, condyloma, nyirokcsomó...)

- 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, vírusok

- **Mikroszkópos** vizsgálat
- **Molekuláris** diagnosztika
  - HPV, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*
- **Szerológiai** diagnosztika
  - *Treponema pallidum*, HIV, HBV, HCV
- Nemzeti referencia laboratórium szerepe
  - **Tenyésztés**
    - *Ureaplasma sp.*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*
  - Antibiógram

# Vírusfertőzések szűrővizsgálata

## HBV

- HBsAg kimutatás
- Oltóanyag
- Védettség antiHBsAt

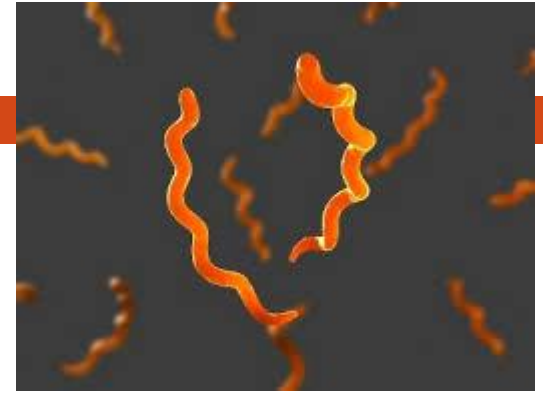
## HIV, HCV

- Ablakperiódus lerövidítésére
  - ▣ 4. generációs tesztek
  - ▣ Ag és At együttes detektálása

# *Syphilis-Treponema pallidum*

## ■ 1. Stádium

- 2 hét lappangás után behatolási kapuban macula, papula
- Ennek felszíne erodálódik
- Ulcus durum, fájdalomtalan, kemény „Fekély”
- Nyirokcsomó is fájdalomtalan „bubo indolens”
- Anus, Cervix, Pharynx
- Spontán gyógyul, de visszatérhet



## 2. Stádium

- 4-8 hét múlva hematogén szóródás, generalizálódik
- Klinikai tünetek
  - ▣ Micropolyadenopathia
  - ▣ Exanthema, Enanthema
    - Tenyéren, talpon is
  - ▣ Condyloma latum (lapos függöly)
  - ▣ Hepatitis
  - ▣ Neurológiai tünetek
  - ▣ Magas láz





# Latencia

- Tünetek spontán elmúlnak
- Korai latencia: Syphilis latens recens
  - 2. év végéig fertőz
  - ( RPR pozitív)
- Késői latencia: Syphilis latens tarda
  - 2. év után nem fertőz( kivétel anya gyerek)
  - (RPR negatív)

# 3. Stádium

- 5-10% kezeletlen betegek
- Gummák  
(granulomatosisus nyh és bőr léziók)
- Kardiovaskuláris léziók
  - Endarteriitis obliterans
    - Aorta dilatáció
    - Aorta aneurisma , ruptura
- Neurosyphilis (Lues III)
  - Progresszív paralízis (encephalopathia)
  - Tabes dorsalis ( hátsó köteg degeneráció)
  - N. opticus degeneráció

# Gummák



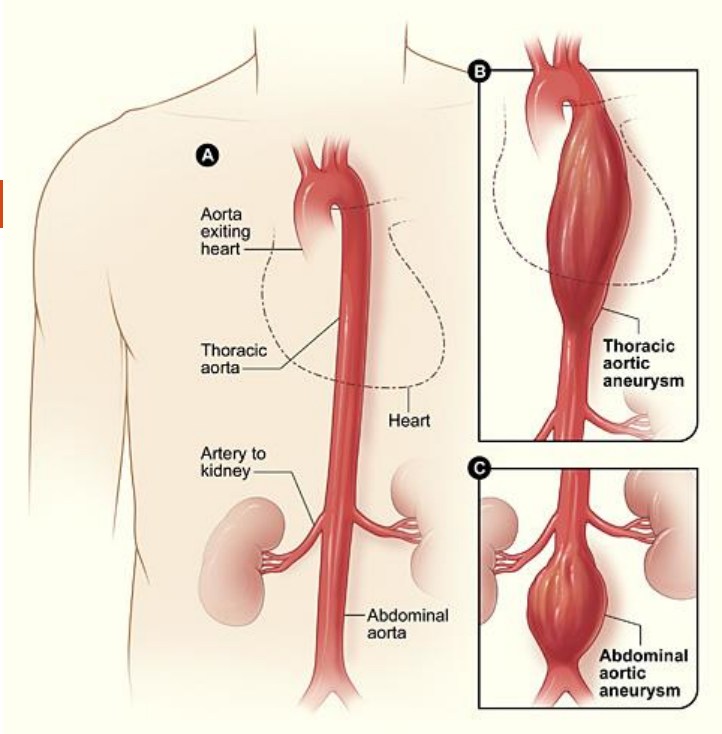
Syphilis destructiva /tertiaria,  
GUMMA-nasi.



Gummatous syphilide, with ulceration and necrosis of  
frontal bone above Xantho.

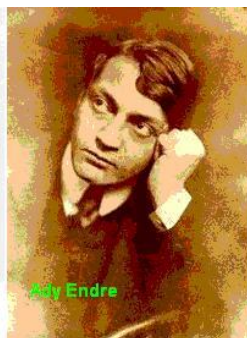


# Aortaaneurysma





Al Capone



Sigmund Freud



Franz Schubert

# Syphilis a hírességekben



Lenin



Van Gogh



Robert Schumann



Valentine's Day at  
**THE LOST LEAF**



**Syphilis Night**  
Friday, February 14, 2014



A romantic evening featuring the music & affairs of some of the greatest Classical & Romantic composers of all time... also afflicted by syphilis.

8:00-10:00 PM  
presented by



ClassicalRevolutionPHX.org

# Szerológiai tesztek

Aspecifikus reakció,  
Reagin típusú At,  
Nem-treponemális Ag

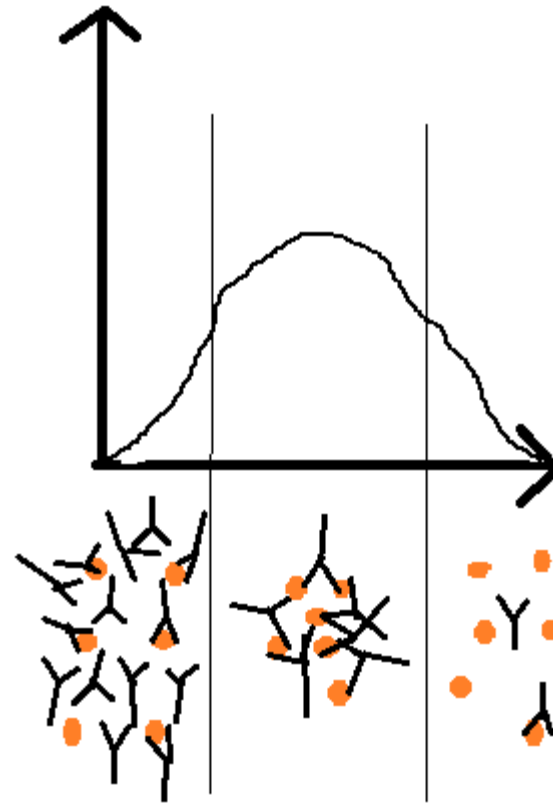
- KKR
- VDRL
- RPR
  
- Cardiolipin, lecitin, cholesterol

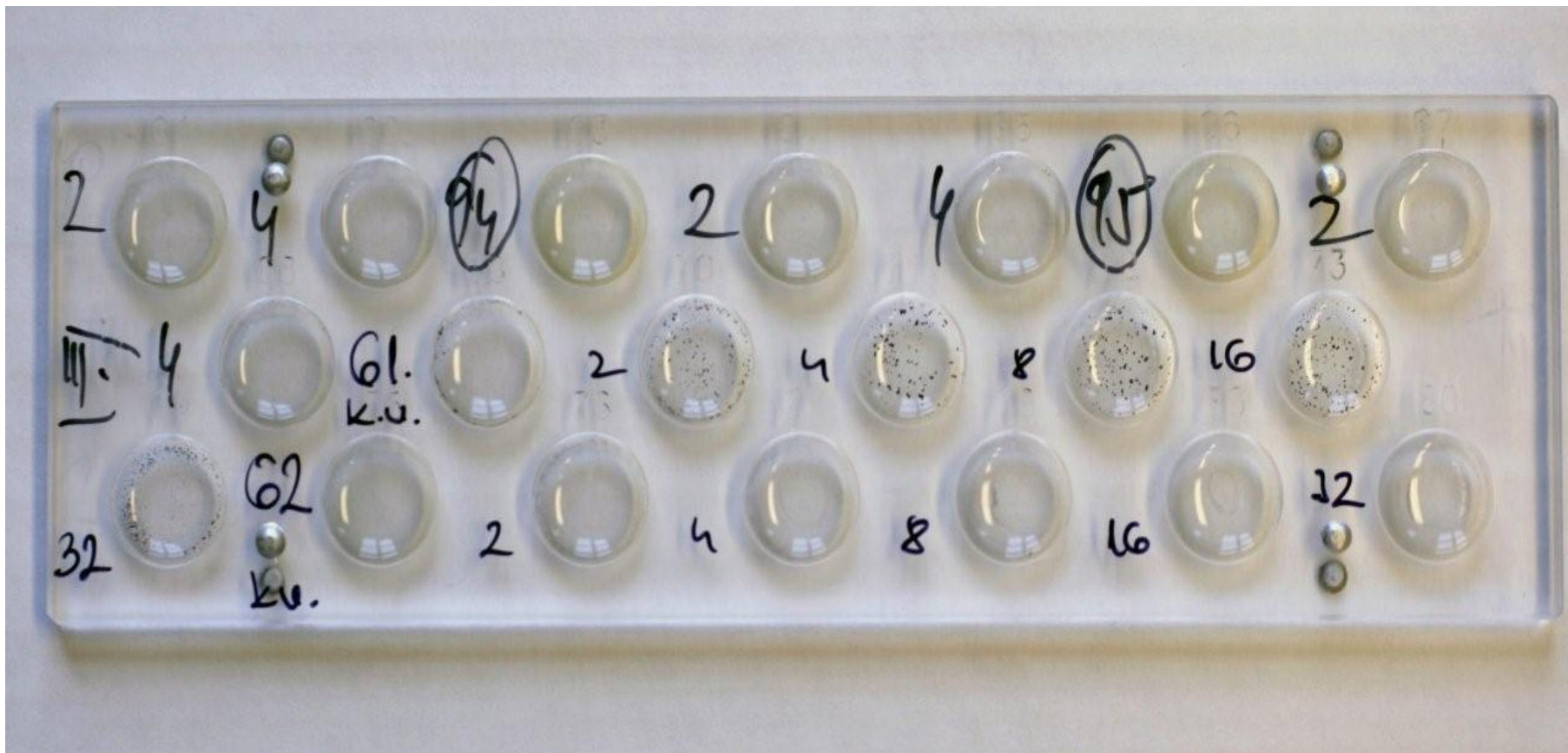
Specifikus reakció  
Immobilizin At  
Treponemális Ag

- TPIT
- FTA-Abs
- TPHA, TPPA
- TP-ELISA
- Western Blot, Immunoblot
  
- Treponema pallidum* fehérjék,  
lipoprotein

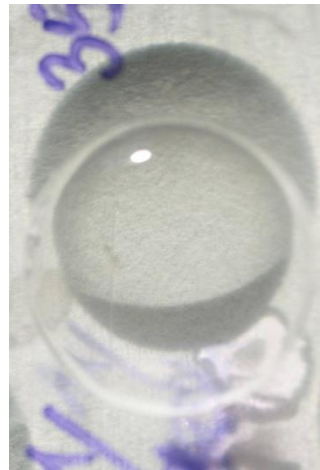
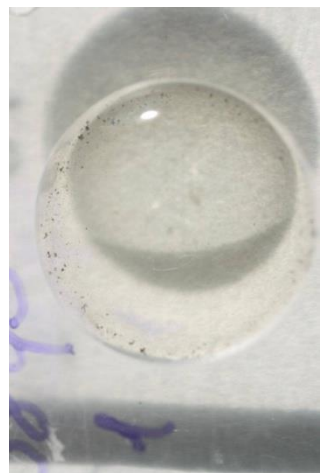
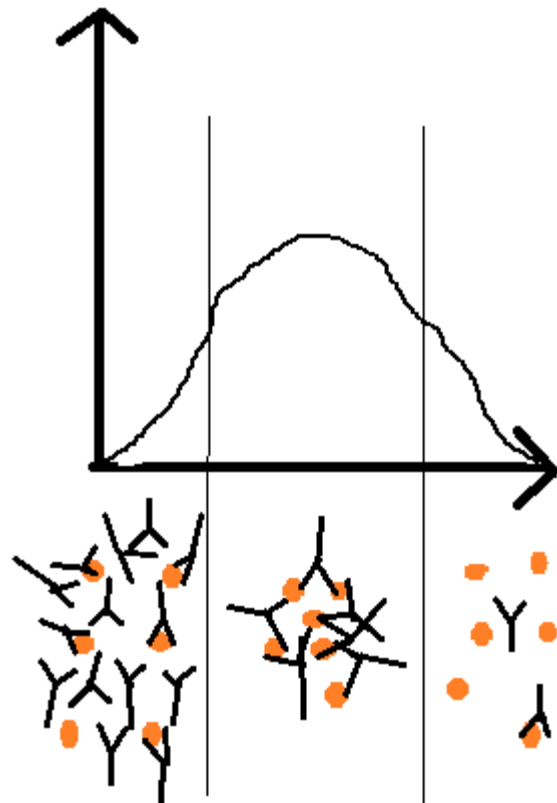
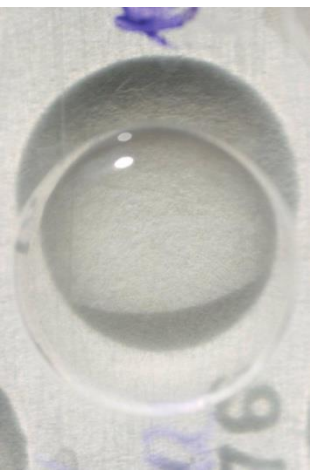
# Nem –treponemális reakciók

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











# BAP

## Biológiailag aspecifikus pozitívítás

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

# TPHA, TPPA

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

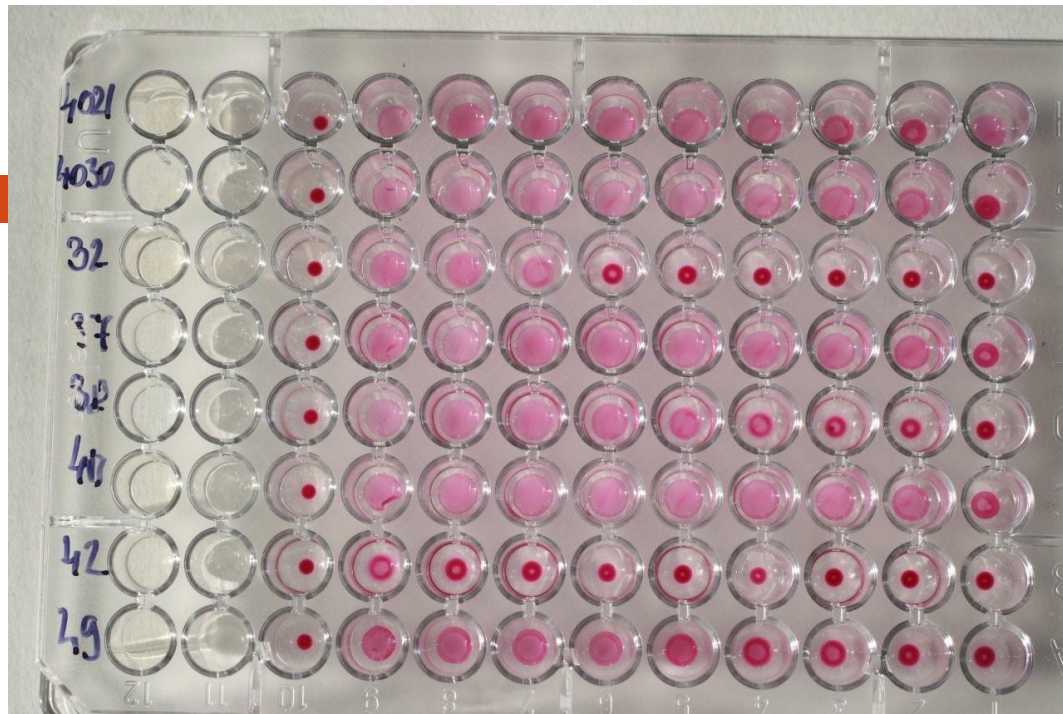
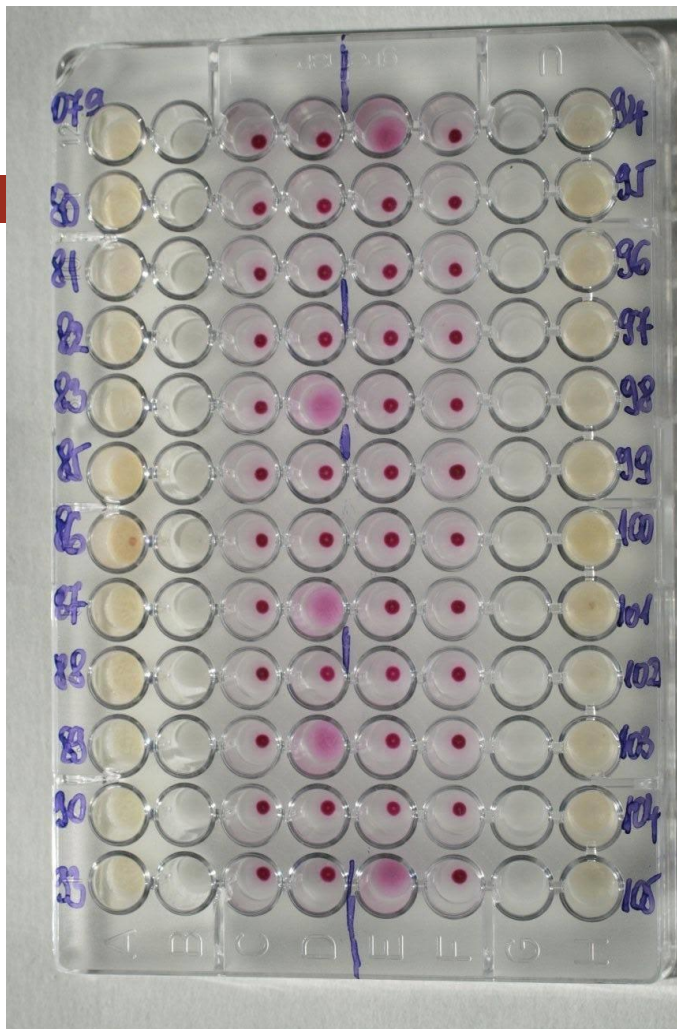
- Neg/Poz (1:80)
- Titer

- IgG, IgM és IgA

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

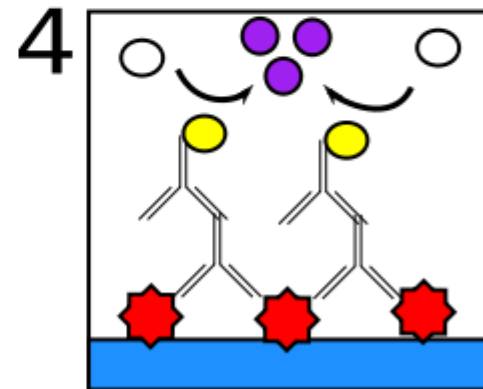
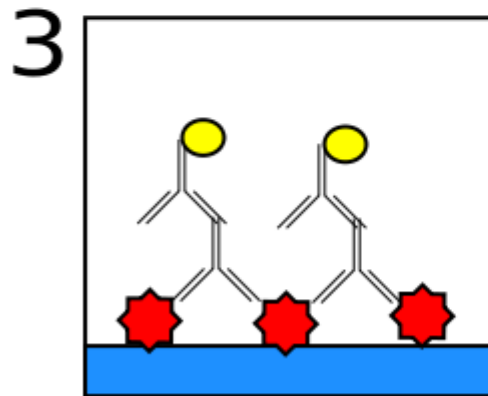
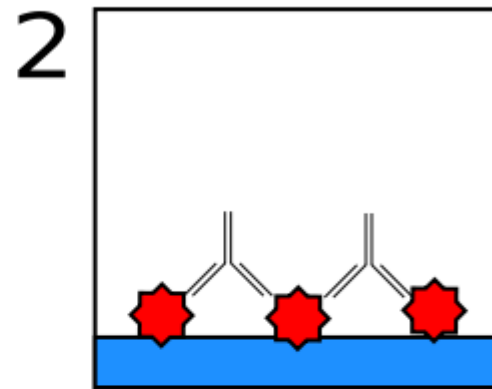
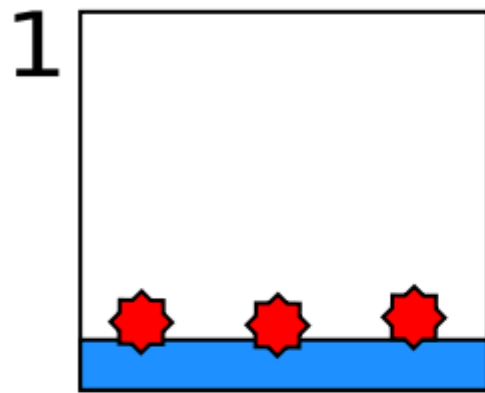
- Neg/Poz (1:80)
- Titer

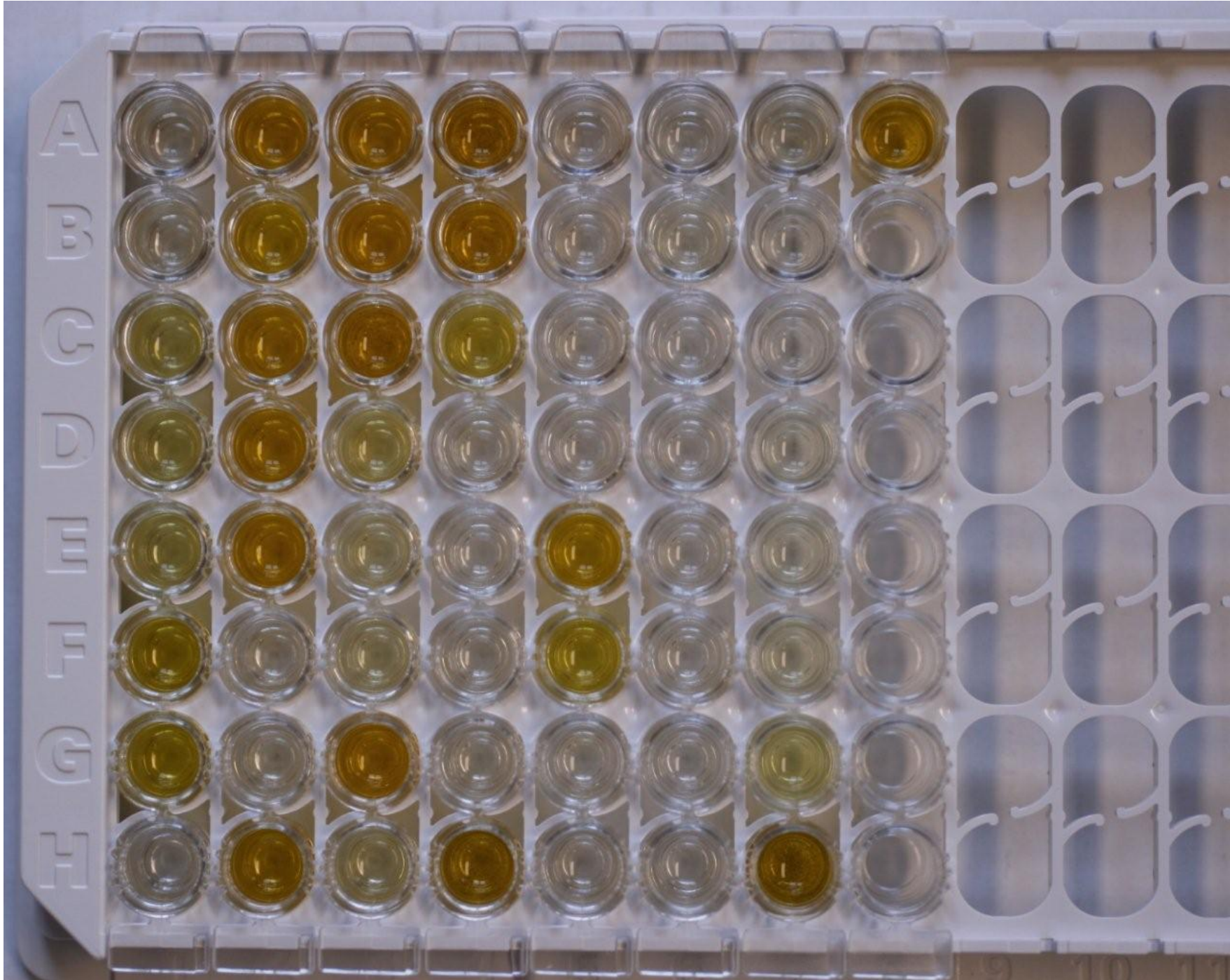
- IgG, IgM és IgA



# TP-ELISA

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





# Western blot vizsgálat

---

- Immunoblot csík
- 15, 17, 45.5 és 47 kDa rekombináns fehérjék
- IgG és IgM csíkok



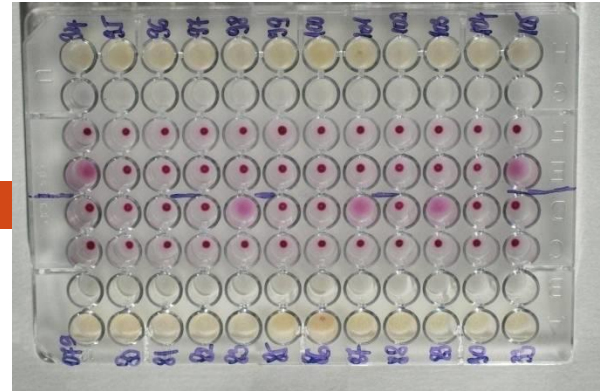


TpN47, TmpA, TpN17,  
TpN15

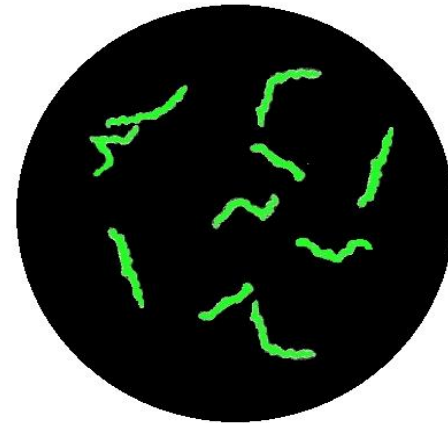
stádium	RPR/VDRL	TPHA/TPPA	TP-ELISA	Immunoblot
Syphilis1	negatív	pozitív	pozitív	IgM pozitív
Syphilis2	pozitív	pozitív	pozitív	pozitív
Korai latencia	pozitív	pozitív	pozitív	pozitív
Késői latencia	negatív	pozitív	pozitív	IgG pozitív
Syphilis 3	negatív	pozitív	pozitív	IgG pozitív
Korán kezelt Syphilis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

# Szűrővizsgálat

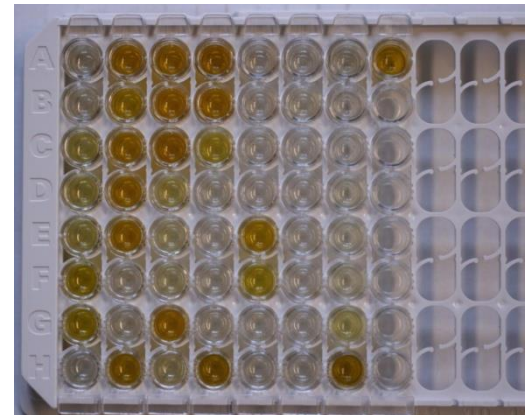
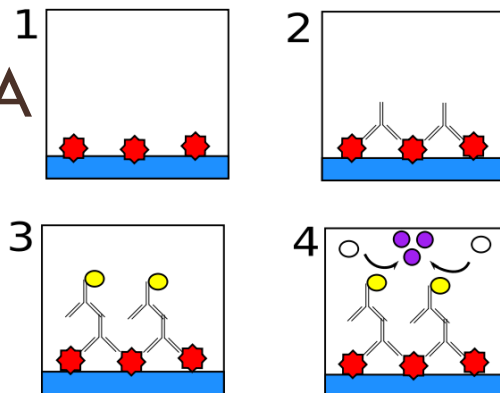
□ TPPA/TPHA



□ FTA-Abs



□ Tp-ELISA



# Megerősítés

## □ Western Blot



# RPR/ VDRL

---

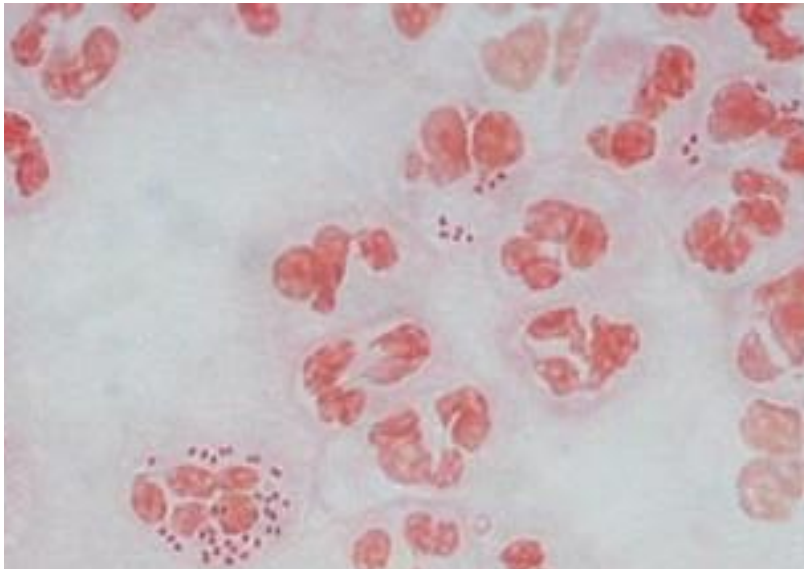
- Stádium meghatározás
- Terápia követése
- Reinfekció kimutatás

# 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*
- (ELISA Ag kimutatás *Chlamydia trachomatis*)
- PCR

# Gram-kenet

***Neisseria gonorrhoeae***



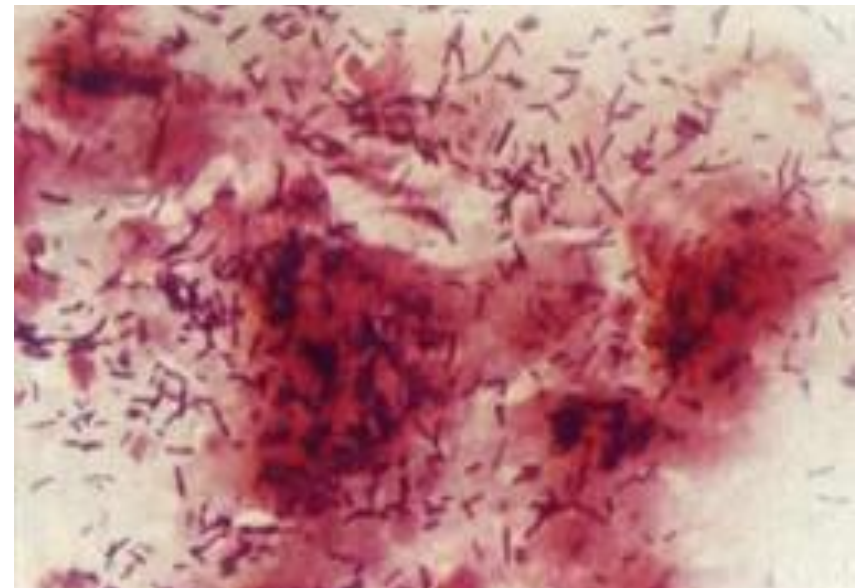
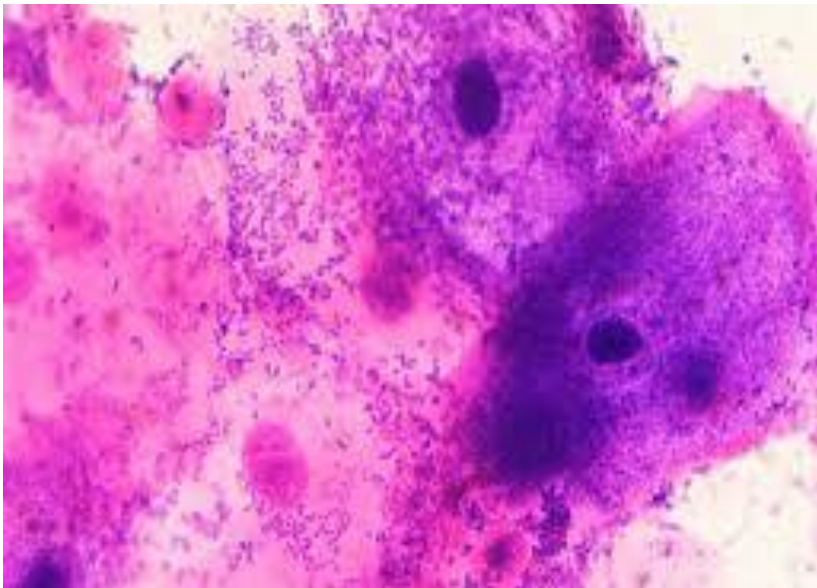
▣ **NGU/PGU** (*Chlamydia trachomatis*  
*Mycoplasma hominis*, *M. genitalium*, *Ureaplasma*  
*urealyticum*, *U. parvum*)



# Gram kenet

**Bakteriális  
vaginózis**

**Citolitikus  
vaginózis**



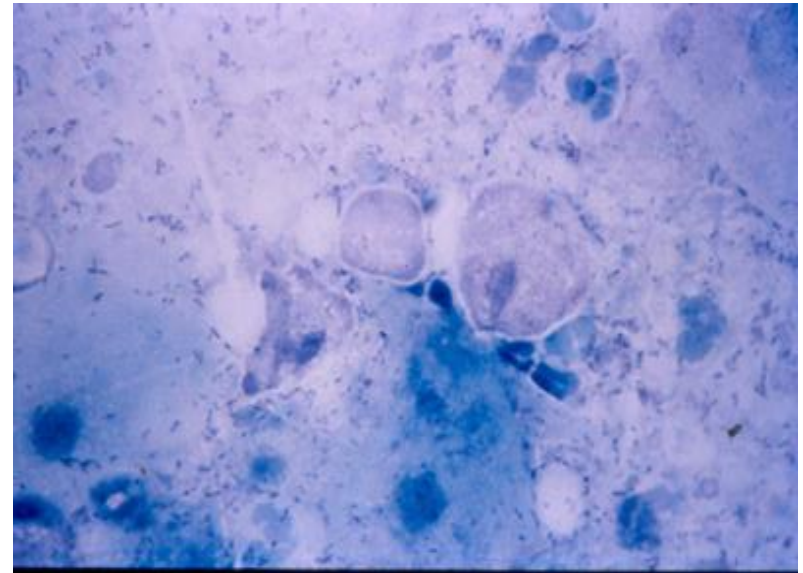


# Gram kenet / Metilénkék festés

**Soor/Candidiasis**



**Trichomoniasis**



# Multiplex PCR

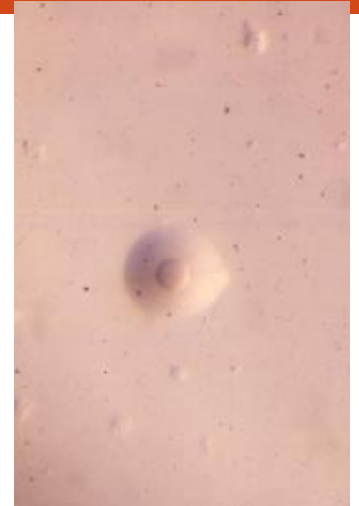
- Egy vizsgálati anyagból több kórokozó egyidejű kimutatása
- Koinfekciók, kombinált terápia
- Rezisztenciáról nem ad információt
- Drága
- Kórokozó elpusztítása után is pozitív még (nem feltétlenül rezisztens kórokozó)

# 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(+)

# Ureaplasma / Mycoplasma

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



# Ureaplasma/Mycoplasma

- Mintavétel speciális transzport közegbe
- Tenyésztés folyékony közegben
- Biokémiai identifikáló tenyésztés
  - ▣ Ureaplasma urealyticum/parvum ureáz aktivitás
  - ▣ Mycoplasma hominis arginin bontás
- ▣ M. genitalium arginin negatív, így nem kimutatható **PCR**



# 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

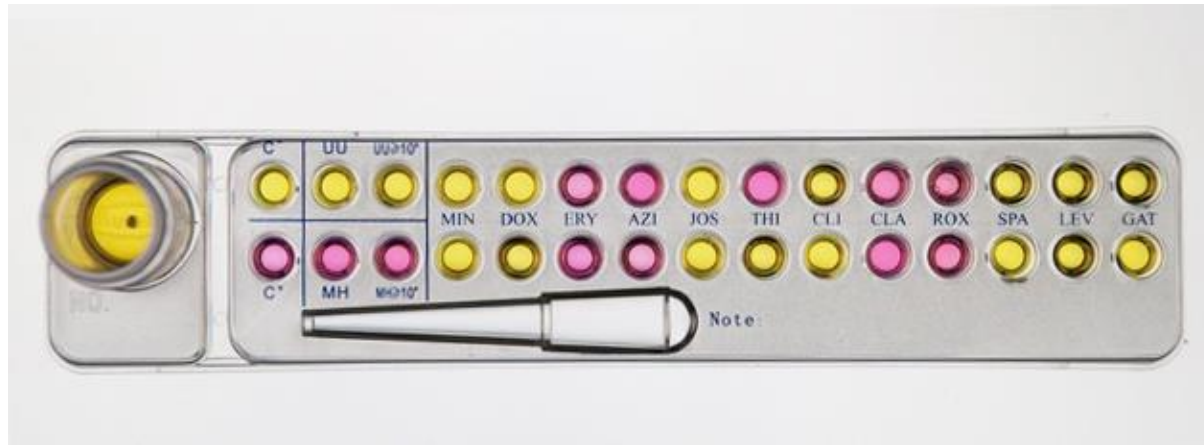
- Faj meghatározás
- Szensitivitás

• Tenyésztés szilárd táptalajon gyakran sikertelen

• Tenyésztés folyékony közegben

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

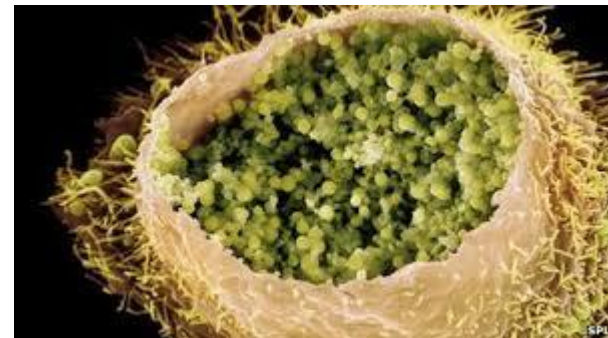
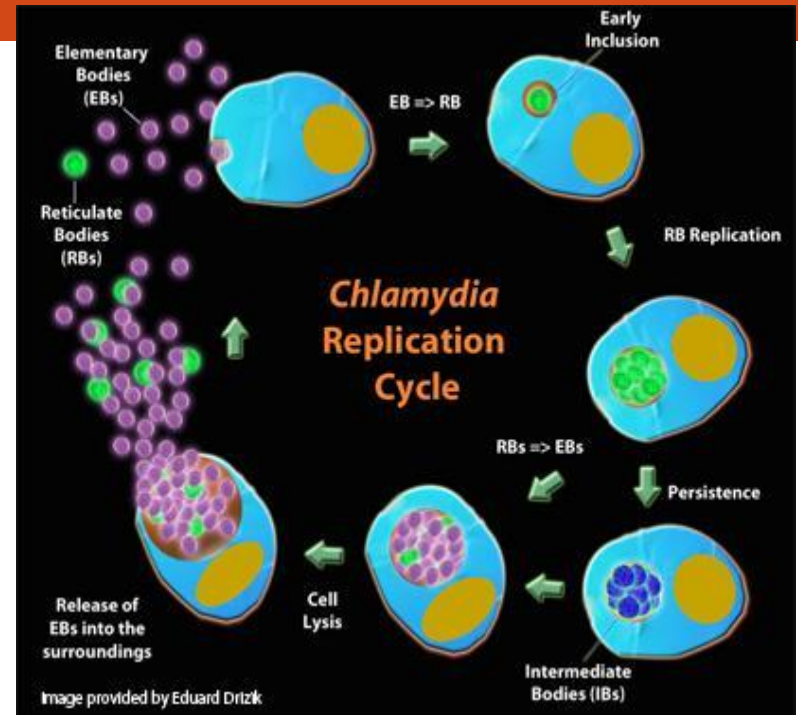
# Antibiotikum érzékenység meghatározás



- Biokémiai aktivitás különböző antibiotikumok mellett
  - Ureaplasma ureáz +
  - Mycoplasma hominis arginin +

# Chlamydia trachomatis

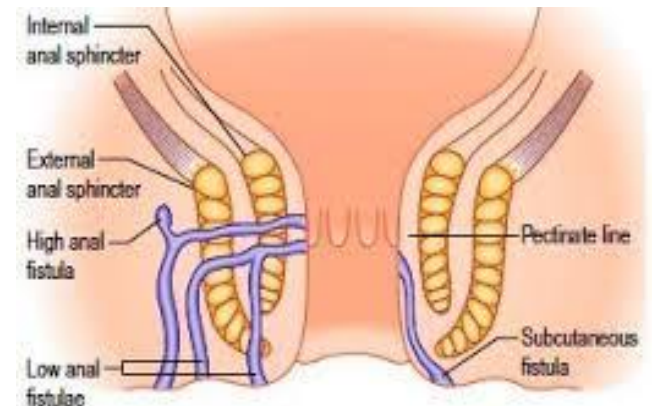
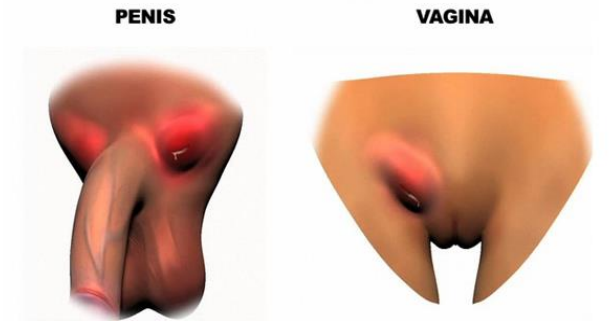
- D-K szerovariáns
  - ▣ NGU
- L1-3 szerovariáns
  - ▣ lymphogranuloma venereum
  - ▣ 3 stádium, szisztémás megbetegedés



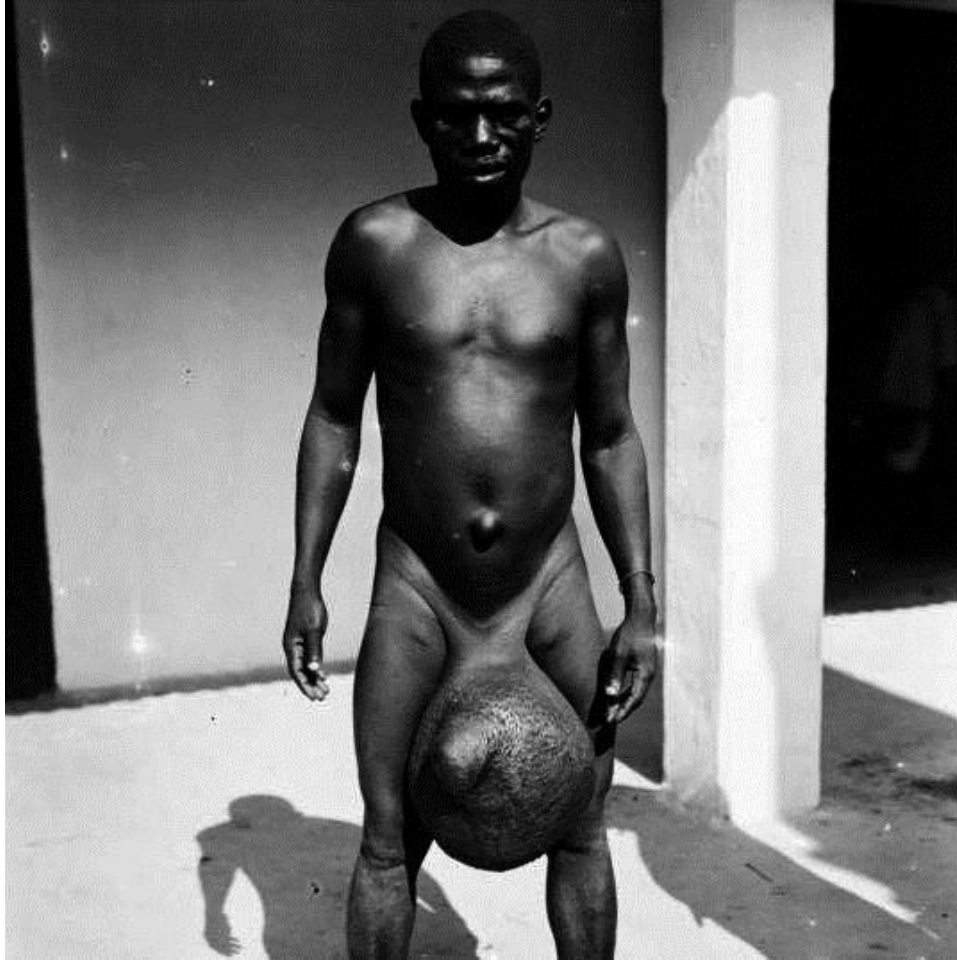


# LGV

- L1-3 szerovariáns
  - lymphogranuloma venereum
  - 3 stádium, szisztémás megbetegedés
    - 1.felshínes, fájdalmatlan fekély, urethra, cervix területéről mucopurulens folyás
    - 2.fájdalmas, egymással és bőrrel összekapaszkodó nyirokcsomók, láz, peritonitis, meningoencephalitis
    - 3. sipolyok, húgycsőszűkület, genitoanalis elephantiasis



# LGV, Elephantiázis



# Chlamydia trachomatis

## Diagnosztika

- PCR
  - ▣ Szerocsoportok között nem tesz különbséget
- Szekvenálás
  - ▣ NGU (D-K szerocsoport) (azithromycin)
  - ▣ LGV (L1-L3 szerocsoport) (doxycyclin)
  
- Ag kimutatás direkt ELISA nem ajánlott, nem korszerű

# *N. gonorrhoeae*

## Anatómiai hely szerinti megoszlás

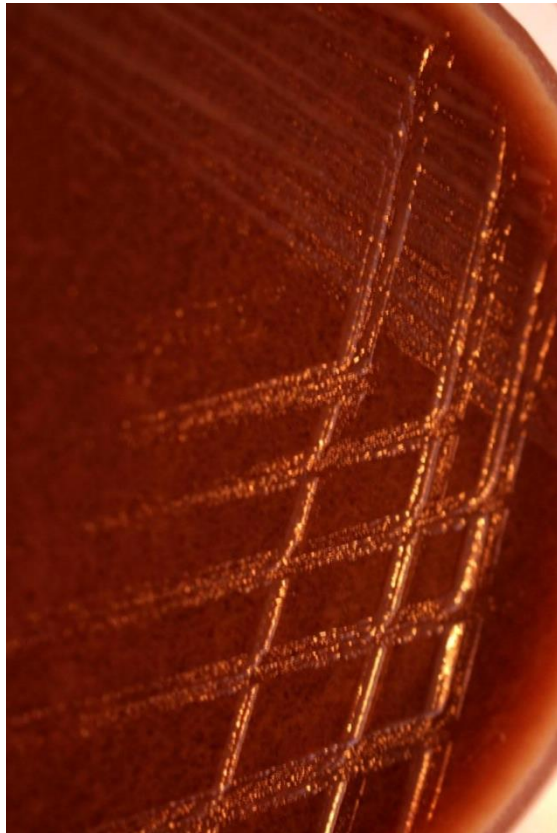
Fertőzés helye	Férfi	%	Nő	%
végbél	88	16,06	10	8,00
méhnyak			77	61,6
kötőhártya	1	0,18		
torok	21	4,0	11	8,08
húgycső	437	79,74	27	21,6
izület	1	0,18		
Összesen	548	100	125	100

# Transzport

- Hagyományos transzport közeg
- Gonoline transzport táptalaj CO<sub>2</sub> fejlesztő tablettával
- Hemokultúrák palack
  - ▣ Izületi punktátum



# Tenyésztés



- **Leoltás közvetlenül a betegből előmelegített táptalajra**
- **Thayer Martin agar (vancomycin, colistin, amphotericin B, trimethoprim)**
- **48-72 óra, 35 C°, 5% CO<sub>2</sub>**
- **Nincs szállítás (94% eredményesség)**

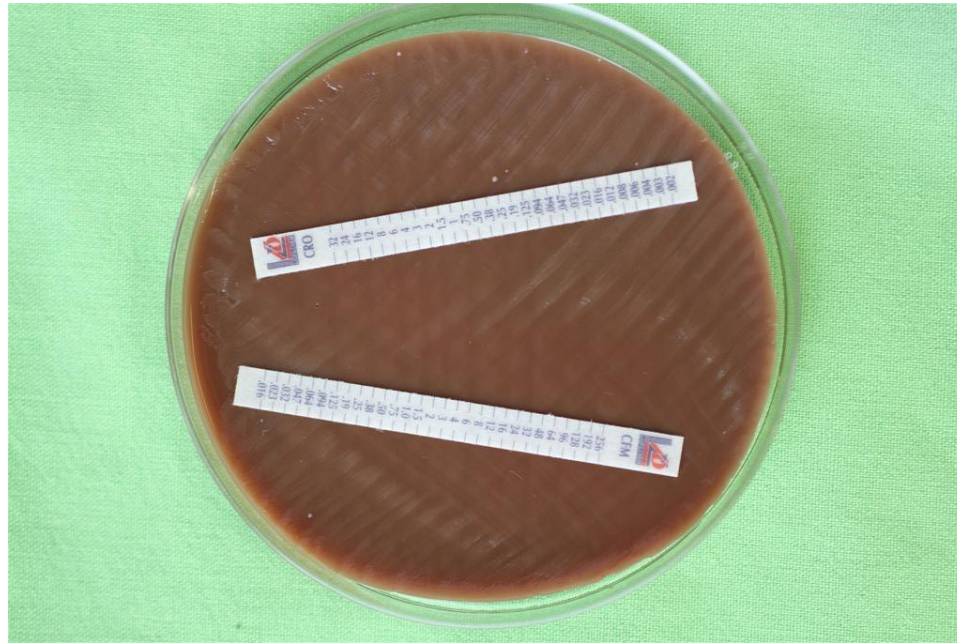
# Identifikálás

- Gram festett kenet
- Oxidáz teszt
- NH API
- MALDI-TOF



# Antibiotikum rezisztencia vizsgálat

- MIC vizsgálat
- Értékelés EUCAST szerint
- E-teszt





# N. gonorrhoeae rezisztenciája

Antibiotikum	Rezisztencia (%)				
	2010	2011	2012	2013	2014
Azithromycin	0,00	0,81	6,96	15,86	32,06 !!
Cefixim	0,00	0,00	0,00	0,53	1,57 !!
Ceftriaxon	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ciprofloxacin	70,45	61,67	64,56	60,30	39,79
Penicillin	94,12	90,24	70,25	79,51	-
Spectinomycin	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tetracyclin	91,76	92,50	82,91	85,52	70,00

