

Magdalena Frej-Mądrzak,
Anna Trojgo,
Dorota Teryks-Wołyniec,
Agnieszka Jama-Kmiecik,
Jolanta Sarowska,
Irena Choroszy-Król

Zakład Nauk Podstawowych, Wydział Nauk
o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego
we Wrocławiu

Wykrywanie przeciwciał anti-cHSP60 *Chlamydia trachomatis* oraz genu *CRP* u pacjentów z nierzęzączkowym zapaleniem cewki moczowej

Detection of anti-cHSP60 *Chlamydia trachomatis* antibodies and *CRP* gene in patients with nongonococcal urethritis

STRESZCZENIE

Cel pracy. Celem pracy było określenie czy metoda ELISA oraz technika nested-PCR mogą być stosowane rutynowo w rozpoznawaniu zakażenia *Chlamydia trachomatis*.

Materiał i metody. Przedmiotem badań były surowica krwi oraz mocz pochodzące od 61 pacjentów w wieku 3–76 lat. Zbadano częstość zakażenia *C. trachomatis* w zależności od płci, wieku i użytej metody diagnostycznej.

Badania przeprowadzono metodą ELISA w kierunku obecności swoistych przeciwciał anti-cHSP60 oraz techniką nested-PCR w celu wykrycia genu *CRP C. trachomatis*.

Wyniki. Metodą ELISA wykryto obecność swoistych przeciwciał anti-cHSP60 w surowicy krwi u 16,4% ogółu badanych, w tym u 22,2% mężczyzn, u 10,5% kobiet. Techniką nested-PCR obecność genu *CRP C. trachomatis* w moczu stwierdzono u 14,8% ogółu badanych, w tym u 15,8% kobiet, u 13,9% mężczyzn oraz u 16,7% dzieci.

Wnioski. Metoda ELISA do wykrywania swoistych przeciwciał anti-cHSP60 wskazująca na dużą zgodność z techniką PCR, może być stosowana do potwierdzania zakażeń *C. trachomatis* wykrytych innymi metodami.

Forum Medycyny Rodzinnej 2015, tom 9, nr 2, 76–78

Słowa kluczowe: *Chlamydia trachomatis*, NGU, diagnostyka

ABSTRACT

Introduction. The aim of the study was to determine whether ELISA method and nested PCR technique may be used routinely to diagnosis *C. trachomatis* infections.

Material and methods. The subject of examination was serum and urine derived from 61 patients aged 3–76 years. The incidence of *Chlamydia trachomatis* infection depending on gender, age and used diagnostic method was examined.

Studies was performed using ELISA, for detection specific anti-cHSP60 antibodies and nested PCR technique for detection *Chlamydia trachomatis CRP* gene (PCR – *Chlamydia trachomatis*).

Results. By ELISA method the presence of specific anti-cHSP60 antibodies in the serum of 16.4% of all respondents was detected, in 22.2% of men and in 10.5% of women. By nested-PCR method the presence of *Chlamydia trachomatis CRP* gene in urine was detected in 14.8% of all respondents, in 15.8% of women, in 13.9% of men and in 16.7% of children.

Conclusions. Method ELISA for the detection of specific anti-cHSP60 antibodies indicates a high compatibility with the PCR technique and may be used to confirm *C. trachomatis* infections detected by other methods.

Forum Medycyny Rodzinnej 2015, vol 9, no 2, 76–78

Key words: *Chlamydia trachomatis*, NGU, diagnosis

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. n. med. Irena Choroszy-Król
Zakład Nauk Podstawowych
ul. Chalubińskiego 4, 50–368 Wrocław
tel.: 71 784 00 76
e-mail: irena.choroszy-krol@umed.wroc.pl

WSTĘP

Diagnostyka nierzęzączkowego zapalenia cewki moczowej (NGU, *non-gonococcal urethritis*) obejmuje badanie podmiotowe i przedmiotowe oraz badania laboratoryjne, których celem jest ustalenie rozpoznania schorzenia, a także wykrycia czynnika etiologicznego zakażenia [1].

Zapalenie cewki moczowej rozpoznaje się na podstawie obecności jednej z poniższych cech: wydzieliny z cewki moczowej, pozytywnego testu na obecność esterazy leukocytowej w moczu, obecności przynajmniej 10 leukocy-

tów w osadzie moczu w polu widzenia (wpw) w powiększeniu 40-krotnym [2].

Celem pracy było określenie, czy metoda ELISA oraz technika nested-PCR mogą być stosowane rutynowo w rozpoznawaniu zakażenia *Chlamydia trachomatis*.

MATERIAŁ I METODY

Badaniu w kierunku zakażenia *C. trachomatis* poddano 61 pacjentów, w tym 36 mężczyzn i 19 kobiet w wieku od 18 do 76 lat, a także sześcioro dzieci w wieku 3–17 lat z objawami stanu zapalnego cewki moczowej. Materiałem

do badań były mocz oraz surowica krwi pochodzące od pacjentów Oddziału Nefrologii Pediatricznej oraz Przychodni MicroFam, kierowanych na badania przez lekarzy specjalistów i Podstawowej Opieki Zdrowotnej. Wykrywanie swoistych przeciwciał anti-cHSP60 klasy IgG w surowicy krwi przeprowadzono metodą ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) firmy Medac [3]. Wykrywanie genu *CRP C. trachomatis* w próbkach moczu wykonano techniką nested-PCR, korzystając z zestawu PCR (*polymerase chain reaction*) dla *Chlamydia trachomatis* firmy DNA Gdańsk [4]. Wszystkie badania wykonano zgodnie z instrukcją producentów.

WYNIKI

Wyniki badań testu ELISA w kierunku obecności przeciwciał anti-cHSP60 w surowicy krwi u pacjentów z NGU prezentuje tabela 1. Jak wynika z niej, przeciwciała anti-cHSP60 w surowicy krwi występowały u 10/61 (16,4%) ogółu badanych, w tym u 2/19 (10,5%) kobiet, u 8/36 (22,2%) mężczyzn, u dzieci ich nie stwierdzono. Technika PCR dodatnie wyniki badań stwierdzono u 9/61 (14,8%) ogółu badanych, w tym u 3/9 (15,8%) kobiet, u 5/36 (13,9%) mężczyzn i u 1/6 (16,7%) dzieci (tab. 2). Wyniki dodatnie metodą ELISA i PCR z uwzględnieniem wieku przedstawia tabela 3. Jak wynika z tej tabeli, wiek badanych wahał się od 3 do 77 lat. Technika ELISA obecność swoistych przeciwciał klasy IgG stwierdzono u jednej osoby w wieku 18–27 lat, u sześciu osób w przedziale wiekowym 28–37 lat i po jednej osobie w przedziałach wiekowych 38–47, 48–57 i 58–67 lat. Technika PCR chlamydie stwierdzono u dziewięciu pacjentów, w tym u jednego w przedziale wiekowym do 17. roku życia, u trzech w wieku 28–37 lat i 38–47 lat oraz po jednej osobie w wieku 48–57 lat i 68–77 lat.

DYSKUSJA

W związku z bardzo małą liczbą doniesień (dostępnych w literaturze) w kierunku obecności swoistych przeciwciał anti-cHSP60 w surowicy krwi oraz genu *CRP* w moczu u pacjentów z NGU przedstawiono wyniki badań w odniesieniu do innych zakażeń *C. trachomatis*.

Frej-Mądrzak i wsp. [5] analizowali częstość występowania antygenu *C. trachomatis*, genu *CRP* oraz przeciwciał anti-cHSP60 u nieplodnych kobiet. Obecność antygenu *C. trachomatis* w wymazach z cewki moczowej stwierdzono u 29,6% kobiet. U 26,8% kobiet odnotowano obecność genu *CRP* w moczu, a u 15,7% pacjentek stwierdzono obecność przeciwciał anti-cHSP60 w surowicy krwi.

Badano związek pomiędzy występowaniem przeciwciał anti-cHSP60 klasy IgG w surowicy krwi a nieplodnością u kobiet. W grupie badanej (n = 146) obecność wyżej wymienionych przeciwciał wykazano u 49,6% kobiet, w grupie kontrolnej u 41,9%. Nie jest to jednak wystarczające potwierdzenie związku pomiędzy obecnością przeciwciał anti-cHSP60 klasy IgG w surowicy krwi a nieplodnością [6].

Choroszy-Król i wsp. [7] badali częstość występowania zakażenia *C. trachomatis* u dzieci z różnymi schorzeniami układu moczowego. Grupę badaną stanowiło 195 dzieci. Testem IF (immunofluorescencji) stwierdzono obecność antygenu *C. trachomatis* w wymazach z cewki moczowej u 50,8% dzieci. Obecność genu

Tabela 1

Wyniki testu immunoenzymatycznego ELISA w kierunku obecności przeciwciał anti-cHSP60 w surowicy krwi u pacjentów z nierzęczkowym zapaleniem cewki moczowej

Płeć	Liczba badanych	Wyniki dodatnie	
		Liczba	%
Kobiety	19	2	10,5
Mężczyźni	36	8	22,2
Dzieci	6	0	0,0
Ogółem	61	10	16,4

Tabela 2

Wyniki testu nested-PCR w kierunku obecności genu *CRP Chlamydia trachomatis* w moczu u pacjentów z nierzęczkowym zapaleniem cewki moczowej

Płeć	Liczba badanych	Wyniki dodatnie	
		Liczba	%
Kobiety	19	3	15,8
Mężczyźni	36	5	13,9
Dzieci	6	1	16,7
Ogółem	61	9	14,8

Tabela 3

Wyniki dodatnie w kierunku *Chlamydia trachomatis* metodą (ELISA, PCR) z uwzględnieniem wieku

Przedział wiekowy (lata)	Liczba badanych	Wyniki dodatnie	
		ELISA+ (IgG anty-cHSP60)	PCR+
do 17	6	0/6 (0,0%)	1/6 (16,6%)
18–27	12	1/12 (8,3%)	0/12 (0,0%)
28–37	15	6/15 (40,0%)	3/15 (20,0%)
38–47	11	1/11 (9,1%)	3/11 (27,2%)
48–57	8	1/8 (12,5%)	1/8 (12,5%)
58–67	7	1/7 (14,2%)	0/7 (0,0%)
68–77	2	0/2 (0,0%)	1/2 (50,0%)
Razem	61	10	9

CRP w moczu techniką nested-PCR wykryto u 65,2% dzieci.

W badaniach własnych analizowano częstość występowania genu *CRP C. trachomatis* oraz przeciwciał anty-cHSP60 u pacjentów z NGU. Gen *CRP* wykryto w moczu u 13,9% mężczyzn, u 15,8% kobiet oraz u 16,7% dzieci. Swoiste przeciwciała anty-cHSP60 stwierdzono w surowicy krwi u 22,2% mężczyzn oraz 10,5% kobiet. W grupie dzieci przeciwciał anty-cHSP60 w surowicy krwi nie stwierdzono. W badaniach własnych brak zgodności wykrywania genu *CRP* w moczu z obecnością swoistych przeciwciał anty-cHSP60 w surowicy krwi u pacjentów z NGU.

Europejskie zalecenia dotyczące diagnozowania zakażeń *C. trachomatis* rekomendują testy genetyczne wykonywane z pierwszego strumienia moczu u mężczyzn i z wymazów z pochwy u kobiet, jako metodę referencyjną w diagnostyce zakażeń chlamydialnych [8].

WNIOSKI

1. Znaczny odsetek (16,4%–16,7%) wyników dodatnich w kierunku *C. trachomatis* w próbkach krwi i w moczu potwierdza rolę etiopatogenetyczną *Chlamydii* w NGU u dorosłych i dzieci.
2. Metoda ELISA do wykrywania swoistych przeciwciał anty-cHSP60, wskazująca dużą zgodność z techniką PCR, może być stosowana do potwierdzania zakażeń *C. trachomatis* wykrytych innymi metodami.

PIŚMIENNICTWO

1. Sun G., Pal S., Sarcon A.K. i wsp. Structural and functional analyses of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. J. Bacteriol. 2007; 189: 6222–6235.
2. Hartley J.C., Kaye S., Stevenson S. i wsp. PCR detection and molecular identification of Chlamydiae species. J. Clin. Microbiol. 2001; 39: 3072–3079.
3. cHSP60–IgG–ELISA medac. Recombinant enzyme immunoassay for the quantitative detection of IgG antibodies to chlamydial heat shock protein 60. Medac 2008.
4. Zestaw diagnostyczny PCR — *Chlamydia trachomatis* do wykrywania *Chlamydia trachomatis* w moczu lub w kulturach komórkowych. DNA — Gdańsk II s.c.
5. Frej-Mądrzak M., Teryks-Wolyniec D., Elias M. i wsp. Znaczenie diagnostyczne wykrywania genu *CRP Chlamydia trachomatis* oraz przeciwciał anty-cHSP60 u nieplodnych kobiet. Fam. Med. Prim. Care Rev. 2010; 12: 176–178.
6. Karinen L., Pouta A., Hartikainen A.L. i wsp. Antibodies to *Chlamydia trachomatis* heat shock proteins Hsp60 and Hsp10 and subfertility in general population at age 31. Am. J. Reprod. Immunol. 2004; 52: 291–297.
7. Choroszy-Król I., Bednorz R., Frej-Mądrzak M. i wsp. Rola *Chlamydia trachomatis* w zakażeniach układu moczowego u dzieci. Adv. Clin. Exp. Med. 2005; 14: 531–536.
8. Lanjouw E., Ossewaarde J.M., Stary A. i wsp. 2010 European guideline for the management of *Chlamydia trachomatis* infections. Int. J. STD. AIDS, 2010; 21: 729–737.