

MARKERI GENITALI AI INFECȚIEI CU CHLAMYDIA TRACHOMATIS LA FEMEI CU BOALĂ INFLAMATORIE PELVINĂ

Genital markers of Chlamydia trachomatis infection in women with pelvic inflammatory disease

Dr. A.V. Dragodan¹, Asist. Univ. Dr. L. Manolescu¹, Asist. Univ. Dr. D. Câmpean²

¹Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau“, București

²Catedra de Obstetrică și Ginecologie, UMF „Carol Davila“, București

REZUMAT

Chlamydia trachomatis, una dintre cele mai frecvente bacterii cu transmitere sexuală, cu peste 90 de milioane de noi cazuri pe an / OMS, este unul dintre principalii agenți etiologici ai BIP, fiind decelată în aproximativ 20-40% dintre cazuri în cervixul femeilor cu această afecțiune. Obiectivul studiului de față este de a releva importanța detecției antigenului LPS (lipopolizaharidic) și ADN ale Chlamydiei trachomatis ca markeri genitali ai infecției cu Chlamydia trachomatis la femei cu BIP, în vederea instituirii unui tratament precoce și adecvat. AgLPS al Chlamydiei trachomatis a fost decelat în 5 cazuri, ADN – Chlamydia trachomatis a fost decelat în 8 cazuri, iar AgLPS și ADN – Chlamydia trachomatis au fost evidențiate împreună la 1 pacientă din totalul cazurilor investigate. Markerul genital prevalent al infecției induse de Chlamydia trachomatis este ADN-Chlamydia trachomatis, urmat de AgLPS. Utilizarea de rutină a tehnicilor de biologie moleculară – PCR, LCR – ar releva mult mai precoce infecția latentă asimptomatică și ar contribui la stabilirea unei terapii antimicrobiene eficiente, prevenind astfel instalarea BIP, a complicațiilor ei, cât și contaminarea viitorilor parteneri sexuali.

Cuvinte cheie: Chlamydia trachomatis, BIP, BTS, markeri genitali

ABSTRACT

Chlamydia trachomatis, one of the most common bacteria sexually transmitted, with over 90 million new cases annually/WHO, is a major etiologic agents of PID (pelvic inflammatory disease), being detected in approximately 20-40% of cases in the cervix of women with this condition.

The objective of this study is to reveal the importance of detection of antigen LPS (lipopolysaccharide) and Chlamydia trachomatis DNA as markers of genital infection with Chlamydia trachomatis, in women with PID in order to establish an early and appropriate treatment. For all cases investigated AgLPS of Chlamydia trachomatis was detected in 5 cases, DNA – Chlamydia trachomatis was detected in 8 cases, and AgLPS and DNA - Chlamydia trachomatis were found together in one patient. The prevalent genital marker in case of Chlamydia trachomatis infection is Chlamydia trachomatis DNA followed by AgLPS. The usage of molecular biology techniques – PCR, LCR – would reveal more early latent asymptomatic infection and would help establish an effective antimicrobial therapy, thus preventing installation of PID and its complications and future contamination of sexual partners.

Key words: Chlamydia trachomatis, PID, genital markers

INTRODUCERE

Infecția cu Chlamydia trachomatis este una dintre cele mai frecvente boli cu transmitere sexuală (BTS), deși formele asimptomatice, foarte frecvente, nu permit încă o evaluare corectă a incidenței (peste 90 de milioane de noi cazuri pe an/OMS). Cu toate că debutul acestei infecții este silențios, fără

manifestări majore, care să creeze un disconfort accentuat, evoluția conduce la sechele serioase, incluzând boala inflamatorie pelvină (BIP), perihepatita (sindromul Fitz-Hugh-Curtis), infertilitate, sarcini ectopice, risc crescut de a contracta o infecție cu HIV (1,2,3). În lipsa tratamentului adecvat, infecțiile cu Chlamydia trachomatis pot evolua spre

Adresă de corespondență:

Dr. A.V. Dragodan, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau“, Șos. Mihai Bravu Nr. 285, Sector 3, București

complicații severe, 40-60% dintre femeile infectate cu această bacterie prezentând BIP, 20-25% dintre pacientele cu BIP devin infertile, 18% dintre infecțiile chlamydiene se cronicizează, iar 9% dintre femeile infectate pot avea sarcini ectopice. Studiile arată că incidența extrem de crescută (peste 1 milion cazuri/an/SUA, circa 100.000 cazuri simptomatice/an/Canada) în ultimele decenii a BIP, se datorează, în cea mai mare parte, infecțiilor recurente și cronice cu *Chlamydia trachomatis* (4, 5, 6).

Boala inflamatorie pelvină (BIP) este definită ca fiind un sindrom clinic acut asociat cu ascensiunea rapidă a microorganismelor din vagin sau cervix în endometru, trompe uterine, ovare și structurile adiacente. Oricare din asocierile endometrită – salpingită, anexită, abcese tubo-ovariene sau pelvipertonită sunt caracteristice pentru BIP. Markerii de risc pentru BIP sunt: vârsta tânără (rată crescută a infecției cu *Chlamydia trachomatis* la adolescente); antecedente de BIP (anexite recurente); antecedente de infecție cu *Chlamydia trachomatis*; parteneri sexuali multipli; excesul de spălături vaginale (modificarea florei locale, leziuni epiteliale, distrucția barierei de mucus cervical); prezența dispozitivelor intrauterine (sterilet, în special în primele 21 zile după montare); contraceptivele orale (pot crește riscul infecției chlamydiene cervicale, dar reduc simptomatologia manifestă în BIP printr-un mecanism încă neclar); condițiile socio-demografice (4,7,8). Etiologia celor mai multe cazuri de BIP este polimicrobiană (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, bacterii anaerobe, *Trichomonas vaginalis*, etc), unul din cei mai comuni patogeni fiind *Chlamydia trachomatis*, decelată în aproximativ 20-40% dintre cazuri în cervixul femeilor cu BIP. După unele studii, la pacientele cu BIP de etiologie *Chlamydia trachomatis*, riscul de sarcină ectopică crește de circa 6-10 ori, iar infertilitatea tubară apare la aproximativ 8% dintre femeile cu un singur episod, la 20% după două episoade și la 40% după trei episoade acute de BIP. Diagnosticul BIP include: diagnostic clinic; investigații paraclinice: ultrasonografie transvaginală, biopsie de endometru, laparoscopie (în cazuri cu simptomatologie atipică sau instalată brusc); investigații adiționale: examene bacteriologice uzuale din secreția vaginală, teste pentru detecția *Chlamydiei trachomatis* (teste serologice, din secreția colului uterin și din primii 10-30 ml ai urinei de dimineață), teste de inflamație nespecifică (VSH, proteina C reactivă, fibrinogen) (9, 10,11).

Obiectivul studiului de față este de a releva importanța detecției antigenului LPS (lipopolizaha-

ridic) și ADN ale *Chlamydiei trachomatis* ca markeri genitai ai infecției cu *Chlamydia trachomatis* la femei cu BIP, în vederea instituirii unui tratament precoce și adecvat.

MATERIAL ȘI METODĂ

Lotul de studiu a implicat participarea a 42 de femei selectate dintre pacientele care s-au adresat medicilor ginecologi în vederea diagnosticării și tratării BIP (GAR 2007/nr. 72). În intervalul 2007-2008 pacientele cu diagnosticul clinic de BIP au fost orientate de către medicul ginecolog (Clinica de Obstetrică și Ginecologie a Spitalului Universitar de Urgență, București) spre cabinetul de consultanță și diagnostic al Institutului de Virusologie „Ștefan S. Nicolau” în vederea detecției și stabilirii *Chlamydiei trachomatis* ca agent etiologic unic al BIP. După informarea și obținerea consimțământului de participare la studiu (consimțământ verbal, cu asigurarea confidențialității), fiecare participantă a fost invitată să completeze un chestionar cu privire la datele personale, care au inclus: vârsta, diagnosticul clinic, date despre simptomele bolii, date despre antecedentele de infecție cu *Chlamydia trachomatis*. Structura grupului de studiu este detaliată în tabelul 1.

TABELUL 1. Structura grupului de studiu

Grup de studiu: 42 paciente (2007-2008) – caracteristici generale
• Vârsta între 19-46 ani / • Diagnostic clinic: BIP
• Simptomatice 19 (45,23%): – primoinfecție: 8 (19,04%) – antecedente nedeclarate: 11 (26,19%)
• Asimptomatice: 23 (54,77%) – primoinfecție: 9 (21,42%) – antecedente nedeclarate: 14 (33,35%)

Probele biologice utilizate au fost secreția endocervicală și urină (primii 10-30 ml din urina de dimineață), în vederea detecției AgLPS – *Chlamydia trachomatis* și ADN – *Chlamydia trachomatis*. Prelevarea secrețiilor din endocol s-a făcut în primele 10 zile după ciclul menstrual, pe masa ginecologică, de către personalul medical specializat. Cu un recoltor steril tip (Copan Diagnostics) s-a îndepărtat excesul de secreții sau mucus (care pot compromite testul), apoi s-a inserat în cervix un alt recoltor tip (Cervex-Brush®) (1-1,5 cm) care se rotește (5-10 secunde) pentru a desprinde celulele de la nivelul canalului endocervical, care apoi se scoate fără a atinge mucoasa vaginală. Prelevatul endocervical a fost suspendat în mediul de transport specific și transportat la laborator în vederea testării. Urina,

recoltată dimineața, la prima oră, după o toaletă locală cu apă și săpun, a fost transportată la laborator, în maximum 1 oră din momentul recoltării, și centrifugată la 2.500 g, 20 minute; sedimentul obținut în urma centrifugării a fost suspendat în mediul de transport specific în vederea testării. În cazul în care probele nu au fost testate imediat, au fost depozitate la - 20°C (12,13,14). Tehnicile de laborator utilizate au fost: Elisa (Mastazyme Chlamydia, Mast Diagnostica GmbH, test comercial pentru detecția AgLPS – Chlamydia trachomatis), extracția ADN (DNA-Sorb-A Extraction Kit, Sacace Biotechnologies, test comercial pentru extracția ADN – Chlamydia trachomatis), PCR (reacția de amplificare a polimerazei) (Chlamydia Trachomatis 330/740 IC, Sacace Biotechnologies, test comercial pentru amplificarea ADN extras) și electroforeza în gel de agaroză 2% pentru vizualizarea ampliconilor de Chlamydia trachomatis (15,16,17,18,19).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

AgLPS al Chlamydiei trachomatis a fost decelat în 5 cazuri, ADN – Chlamydia trachomatis a fost decelat în 8 cazuri, iar AgLPS și ADN – Chlamydia trachomatis au fost evidențiate împreună la 1 pacientă din totalul cazurilor investigate, distribuția lor în grupul studiat fiind prezentată în tabelul 2.

În cazul pacientelor simptomatice, distribuția AgLPS și a ADN-Chlamydia trachomatis a fost

următoarea: 1 caz a avut prezent AgLPS în urină, 1 caz în endocol și 1 caz și în urină și în endocol. La cele 23 de paciente asimptomatice, AgLPS a fost prezent la: 2 cazuri în urină și 1 caz în endocol. ADN-ul chlamydian a fost prezent în endocol la 2 paciente simptomatice, la 2 paciente asimptomatice a fost detectat în urină, la 4 paciente asimptomatice în endocol și la 1 pacientă asimptomatică atât în urină, cât și în endocol. Prevalența AgLPS și a ADN-Chlamydia trachomatis la paciente simptomatice și asimptomatice este prezentată în tabelul 3. În ceea ce privește statusul infecției, distribuția AgLPS și a ADN a fost următoarea: AgLPS a fost prevalent la cazurile cu primoinfecție (3 cazuri) și ADN-ul chlamydian la pacientele care au negat antecedentele de infecție chlamydiană (8 cazuri) (tabelul 4).

AgLPS al Chlamydiei trachomatis a fost prezent la 11,9% din totalul pacientelor cu BIP investigate, prevalența fiind egală la pacientele simptomatice și asimptomatice – 7,14%. Prevalența crescută a AgLPS a fost asociată cu cazurile de BIP cu primoinfecție chlamydiană – 7,14%.

ADN – Chlamydia trachomatis a fost evidențiat la 19,04% cazuri dintre cele testate, prevalența crescută caracterizând pacientele asimptomatice – 14,28% și pacientele cu antecedente nedeclarate de infecție chlamydiană – 19,04%. Probabil că infecția chlamydiană asimptomatică contractată în antecedente, confirmată doar de prezența ADN, a indus

TABELUL 2. Distribuția AgLPS și a ADN-Chlamydia trachomatis în grupul studiat în funcție de produsele biologice testate

Probe biologice testate	Nr. probe	AgLPS - Chlamydia trachomatis	Nr. probe	ADN - Chlamydia trachomatis	Nr. probe	AgLPS + ADN - Chlamydia trachomatis
urină	40	2 (5%)	41	1 (2,43%)	40	0
secreție endocol	42	2 (4,76%)	42	6 (14,28%)	42	1 (2,38%)
urină + secreție endocol	42	1 (2,38%)	42	1 (2,38%)	42	0

TABELUL 3. Prevalența AgLPS și a ADN-Chlamydia trachomatis la paciente simptomatice și asimptomatice

AgLPS / ADN - Chlamydia trachomatis	19 paciente simptomatice	Probe biologice testate	23 paciente asimptomatice	Probe biologice testate
AgLPS-Chlamydia trachomatis	1 (2,38%)	urină	2 (4,76%)	urină
	1 (2,38%)	secreție endocol	1 (2,38%)	secreție endocol
	1 (2,38%)	urină + secreție endocol	0	urină + secreție endocol
ADN-Chlamydia trachomatis	0	urină	1 (2,38%)	urină
	2 (4,76%)	secreție endocol	4 (9,52%)	secreție endocol
	0	urină + secreție endocol	1 (2,38%)	urină + secreție endocol

TABELUL 4. Prevalența AgLPS și a ADN-Chlamydia trachomatis în funcție de statusul infecției

AgLPS / ADN - Chlamydia trachomatis	Status-ul infecției cu Chlamydia trachomatis	
	Primoinfecție 17 paciente	Antecedente nedeclarate 25 paciente
AgLPS-Chlamydia trachomatis	3 (7,14%)	2 (2,38%)
ADN-Chlamydia trachomatis	0	8 (19,04%)

instalarea insidioasă a BIP. Un rol important în contractarea infecției chlamydiene l-au avut, probabil, contactele sexuale neprotejate cu parteneri sexuali asimptomatici pentru *Chlamydia trachomatis*, fiind cunoscut faptul că peste 50% dintre bărbați sunt purtători asimptomatici ai acestei bacterii (20,21). Dacă partenerii sexuali au fost multipli și consecutivi (date nedeclarate), riscul dezvoltării BIP a fost amplificat, datorită posibilelor infecții chlamydiene recurente (22).

CONCLUZII

Markerul genital prevalent al infecției induse de *Chlamydia trachomatis* este ADN-*Chlamydia trachomatis*, urmat de AgLPS.

Riscul dezvoltării BIP este amplificat în cazul unui număr crescut de parteneri sexuali – mai ales cei cu portaj asimptomatic al *Chlamydiei trachomatis* – și în cazul sexului neprotejat, fapt care favorizează creșterea numărului de recurențe și cronicizarea bolii.

Introducerea în rutina diagnosticului de laborator al *Chlamydiei trachomatis* a detecției acizilor nucleici bacterieni cu ajutorul tehnicilor de biologie moleculară – PCR, Real Time PCR, LCR (ligase chain reaction) – ar releva mult mai precoce infecția latentă asimptomatică și ar contribui la stabilirea unei terapii antimicrobiene eficiente, prevenind astfel instalarea BIP, a complicațiilor ei, cât și contaminarea viitorilor parteneri sexuali.

BIBLIOGRAFIE

1. Currie M.J., Bowden F.J. – The importance of chlamydial infections in obstetrics and gynaecology: an update, *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2007; 47(1): 2-8
2. Miller K.E. – Diagnosis and treatment of *Chlamydia trachomatis* infection, *Am Fam Physician.* 2006; 73(8): 1411-6
3. Risser W.L., Risser J.M. – The incidence of pelvic inflammatory disease in untreated women infected with *Chlamydia trachomatis*: a structured review, *Int J STD AIDS.* 2007; 18(11): 727-31
4. Ross J.D. – Pelvic inflammatory disease, *Clin Evid (Online).* 2008; 2008. pii: 1606
5. Ross J., Judlin P., Nilas L. – European guideline for the management of pelvic inflammatory disease, *Int J STD AIDS.* 2007; 18(10): 662-6
6. Dayan L. – Pelvic inflammatory disease, *Aust Fam Physician.* 2006; 35(11): 858-62
7. Haggerty C.L., Ness R.B. – Diagnosis and treatment of pelvic inflammatory disease, *Womens Health (Lond Engl).* 2008; 4(4): 383-97
8. Gray-Swain M.R., Peipert J.F. – Pelvic inflammatory disease in adolescents, *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2006; 18(5): 503-10
9. Oakshott P., Kerry S., Atherton H., Aghaizu A., Hay S., Taylor-Robinson D., Simms I., Hay P. – Community-based trial of screening for *Chlamydia trachomatis* to prevent pelvic inflammatory disease: the POPI (prevention of pelvic infection) trial, *Trials* 2008; 9:73
10. Van den Brûle F., Freyens A., Gaspard U. – Management of *Chlamydia trachomatis* pelvic infection, *Rev Med Liege.* 2006; 61(5-6): 433-41
11. Blandford J.M., Gift T.L. – Productivity losses attributable to untreated chlamydial infection and associated pelvic inflammatory disease in reproductive-aged women, *Sex Transm Dis.* 2006; 33(10 Suppl): S117-21
12. Skidmore S., Horner P., Mallinson H. – Testing specimens for *Chlamydia trachomatis.*, *Sex Transm Infect.* 2006; 82(4): 272-5
13. Fischbach Frances. – A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests, 7-th Edition, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2004
14. Geisler W.M., Chow J.M., Schachter J., McCormack W.M. – Pelvic examination findings and *Chlamydia trachomatis* infection in asymptomatic young women screened with a nucleic acid amplification test, *Sex Transm Dis.* 2007; 34(6): 335-8
15. Chernesky M.A. – The laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections, *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2005; 16(1): 39-44
16. Meyer T. – Modern diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections, *Hautarzt.* 2007; 58(1): 24-30
17. Jatou K., Bille J., Greub G. – A novel real-time PCR to detect *Chlamydia trachomatis* in first-void urine or genital swabs, *J Med Microbiol.* 2006; 55(Pt 12): 1667-74
18. Risser W.L., Risser J.M. – The incidence of pelvic inflammatory disease in untreated women infected with *Chlamydia trachomatis*: a structured review, *Int J STD AIDS.* 2007; 18(11): 727-31
19. Van den Brûle F., Freyens A., Gaspard U. – Management of *Chlamydia trachomatis* pelvic infection, *Rev Med Liege.* 2006; 61(5-6): 433-41
20. Haggerty C.L., Ness R.B. – Newest approaches to treatment of pelvic inflammatory disease: a review of recent randomized clinical trials, *Clin Infect Dis.* 2007; 44(7): 953-60
21. Skidmore S., Horner P., Mallinson H. – Testing specimens for *Chlamydia trachomatis.*, *Sex Transm Infect.* 2006; 82(4): 272-5
22. Jalal H., Stephen H., Alexander S., Carne C., Sonnex C. – Development of real-time PCR assays for genotyping of *Chlamydia trachomatis.*, *J Clin Microbiol.* 2007; 45(8): 2649-53