

PRACE ORYGINALNE • ORIGINAL PAPERS

Badania przesiewowe w kierunku antygenów oraz genu 16S RNA *Chlamydia pneumoniae* w populacji ludzi zdrowych**Screening for 16S RNA *Chlamydia pneumoniae* antigens and genes in the population of healthy people**IRENA CHOROSZY-KRÓL^{A, G}, JAKUB HETMAŃCZYK^{B, F}, MAGDALENA FREJ-MĄDRZAK^{C, E}, JOLANTA SAROWSKA^{D, B}, DOROTA TERYKS-WOŁYNIĘC^E, AGNIESZKA JAMA-KMIECIK^{F, C}

Zakład Nauk Podstawowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

A – przygotowanie projektu badania, **B** – zbieranie danych, **C** – analiza statystyczna, **D** – interpretacja danych, **E** – przygotowanie maszynopisu, **F** – opracowanie piśmiennictwa, **G** – pozyskanie funduszy

PL ISSN 1734-3402

Streszczenie Wstęp. Przeprowadzono analizę wyników badań w kierunku *Chlamydia pneumoniae* (*Chl. pneumoniae*) u zdrowych dorosłych w wieku 20–69 lat.**Materiał i metody.** Przedmiotem badań były wymazy z tylnej ściany gardła pochodzące od 100 osób, głównie pracowników i studentów UM we Wrocławiu. Badanie w kierunku *Chl. pneumoniae* wykonywano techniką IF pośredniej oraz techniką PCR w celu wykrycia genu kodującego 16S RNA.**Wyniki.** Metodą IF pośredniej wykryto obecność antygeny *Chl. pneumoniae* w wymazach z gardła u 15% ogółu badanych, w tym u 14,9% kobiet i u 15,4% mężczyzn. Technika end-point PCR obecność genu kodującego białko 16S RNA *Chl. pneumoniae* stwierdzono u 8% badanych, w tym u 7,7% mężczyzn i u 8,1% kobiet.**Wnioski.** Stwierdzenie *Chl. pneumoniae* w gardle u 15% zdrowych dorosłych może wskazywać na zakażenie bezobjawowe. Częstość wykrywania *Chl. pneumoniae* w badanych grupach kobiet i mężczyzn była podobna i wynosiła odpowiednio: 14,9 i 15,4% dla metody IFp oraz 8,1 i 7,7% dla metody PCR.**Słowa kluczowe:** *Chlamydia pneumoniae*, nosicielstwo, dorośli.**Summary Background.** The analysis of *Chlamydia pneumoniae* (*Chl. pneumoniae*) test was conducted amongst healthy adults aged 20–69 years.**Material and methods.** The subject of examination was the smear collected from the back side of the pharynx obtained from 100 adults mainly from students and staff working in MU Wrocław. The *Chl. pneumoniae* test was conducted by IF indirect technique and PCR technique in order to detect the 16S RNA coding gene.**Results.** By the IF indirect method the presence of *Chl. pneumoniae* antigens was revealed in the throat smear of 15% of the examined in which 14.9% were women and 15.4% were men. The end-point PCR technique revealed the presence of the protein coding gene 16S RNA *Chl. pneumoniae* amongst 8% of the examined in which 7.7% were men and 8.1% were women.**Conclusions.** The presence of *Chl. pneumoniae* in the pharynx of 15% healthy adults may indicate a subclinical infection. The frequency of detecting *Chl. pneumoniae* amongst the examined groups of men and women was similar and amounted respectively: 14.9% and 15.4% by IF indirect and 8.1% and 7.7% by PCR method.**Key words:** *Chlamydia pneumoniae*, carrier-state, adults.

Wstęp

Diagnostyka bakteriologiczna zakażeń *Chlamydia pneumoniae* (*Chl. pneumoniae*) jest ważnym problemem badawczym na świecie [1]. Bezpośrednią przyczynę stanowi wzrastająca liczba zakażeń wywołanych tym drobnoustrojem oraz specyficzne cechy tego organizmu, którymi są m.in.: wykorzystanie ATP zakażonej komórki do własnych celów energetycznych i ściana komórkowa zawierająca lipopolisacharyd pozbawiony warstwy peptydoglikanu [1, 2]. Problemem diagnostycznym jest nietypowy sposób rozmnażania się *Chl. pneumoniae* (dwie formy rozwojowe) oraz zakwalifikowanie rodziny *Chlamydiaceae* do bezwzględnych pasożytów komórkowych [3].

Obecnie wykorzystuje się wiele metod służących do diagnostyki *Chl. pneumoniae*, m.in.: badanie wykrywania antygeny w materiale pobranym od pacjenta, oznaczanie poziomu przeciwciał w surowicy oraz badania genetyczne. Wymienione metody różnią się czułością, swoistością i kosztami, a porównywanie wyników tych metod nie daje jednoznacznej odpowiedzi, czy jest to zakażenie wymagające

leczenia [3]. Bezobjawowa kolonizacja stanowi od 2 do 5% populacji osób zakażonych *Chl. pneumoniae* na świecie [1].

Cel pracy

Celem pracy była ocena częstości występowania *Chl. pneumoniae* u dorosłych niezgłaszających żadnych dolegliwości ze strony układu oddechowego przy użyciu dwóch technik diagnostycznych.

Materiał i metody

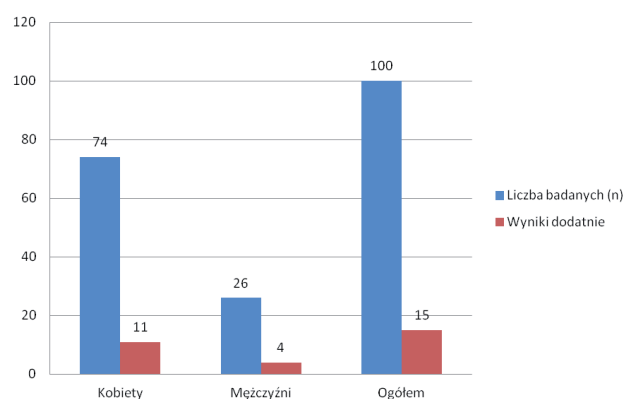
Przedmiotem badań były 2 wymazy z tylnej ściany gardła pochodzące od 100 osób w wieku od 20 do 69 lat (w tym 26 mężczyzn i 74 kobiet). Grupę badaną stanowili pracownicy naukowi Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu ($n = 16$), administracji ($n = 38$), studenci ($n = 20$) oraz osoby prywatne ($n = 26$).

Wymazy pobierano w godzinach porannych zgodnie z obowiązującymi procedurami. Badania bakteriologiczne

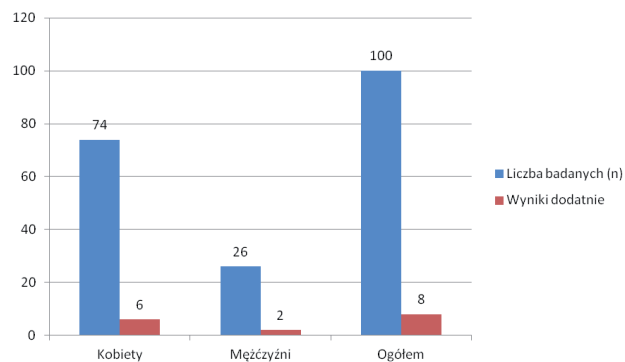
w kierunku *Chl. pneumoniae* wykonano techniką IF pośredniej z użyciem monoklonalnych przeciwciał znakowanych izotiocyjanianem fluoresceiny FITC (Chlamydia CEL PN-IFT test firmy Cellabs) oraz mikroskopu fluorescencyjnego firmy Olympus [3]. W celu izolacji materiału DNA z nąbłonek pobierano drugi wymaz. Do wykrywania DNA wykorzystano zestaw diagnostyczny PCR-Chlamydia pneumoniae KIT firmy GeneProof, umożliwiającą wykrycie DNA przy użyciu polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR). Wszystkie badania zostały wykonane zgodnie z zaleceniami instrukcji producentów odczynników [4].

Wyniki

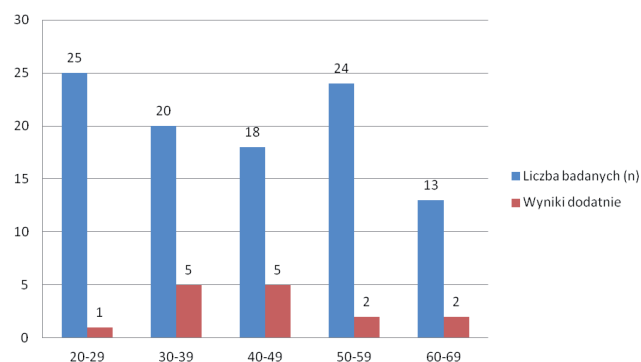
Obecność antygenów *Chl. pneumoniae*, wykrywanych testem IFp, stwierdzono u 15% badanych, w tym u 14,9% kobiet i u 15,4% mężczyzn (ryc. 1). Gen kodujący białko 16S RNA swoiste dla *Chl. pneumoniae* w wymazach z tylnej ściany gardła wykazano u 8% ogółu badanych, w tym u 8,1% kobiet i u 7,7% mężczyzn (ryc. 2).



Rycina 1. Częstość wykrywania *Chl. pneumoniae* u dorosłych badanych metodą immunofluorescencji pośredniej (IFp)



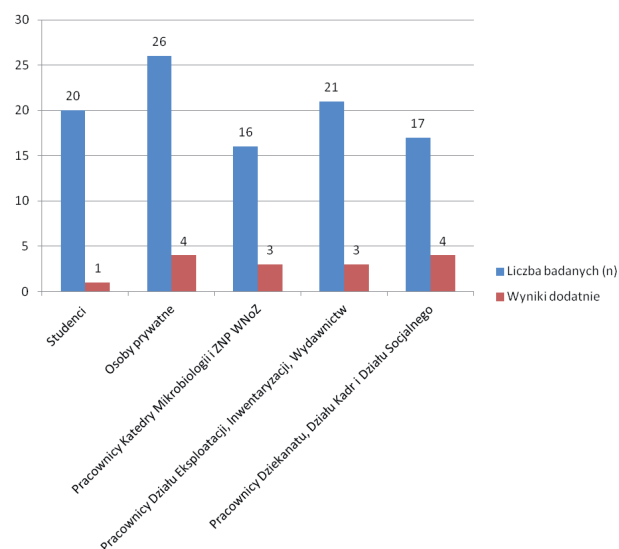
Rycina 2. Częstość występowania *Chl. pneumoniae* u dorosłych nosicieli badanych techniką end-point PCR



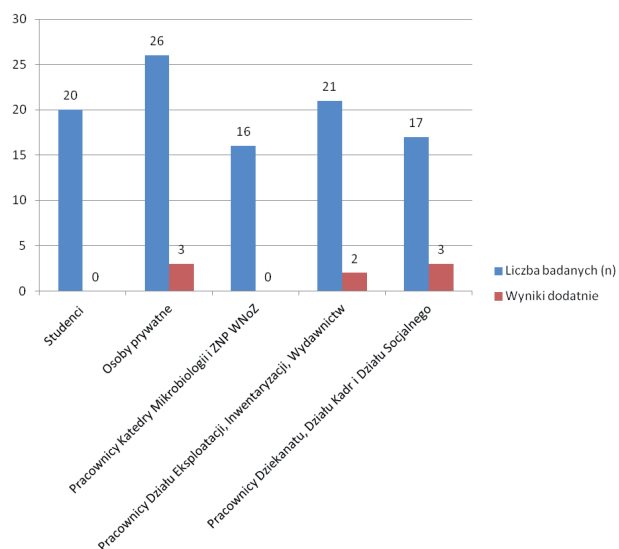
Rycina 3. Częstość wykrywania *Chl. pneumoniae* u dorosłych w różnych grupach wiekowych potwierdzona testem immunofluorescencji pośredniej (IFp)

Najniższy odsetek wyników dodatnich (4%) obserwowano w grupie osób w wieku 20–29 lat. Wyższy odsetek wyników dodatnich wykazano w grupach wiekowych 50–59 lat i 60–69 lat; kolejno 8,3 oraz u 15,4%. U pacjentów w wieku 30–39 lat obecność bakterii potwierdzono w przypadku 25% badanych (ryc. 3). Najwyższy odsetek wyników dodatnich (27,8%) stwierdzono u osób w grupie wiekowej 40–49 lat.

Częstość wykrywania *Chl. pneumoniae* metodą IFp oraz techniką PCR, uwzględniając charakter pracy osób badanych, obrazują ryciny 4 i 5. Odsetek wyników dodatnich uzyskanych metodą IFp wynosił w grupie studentów 5%, natomiast metodą PCR wyników dodatnich nie stwierdzono. Wyższym odsetkiem wyników pozytywnych, zarówno IFp, jak i PCR, charakteryzowała się grupa osób prywatnych, u których antygen *Chl. pneumoniae* wykryto kolejno u 5,4 i 11,5% osób. U pracowników naukowych Uniwersytetu Medycznego metodą IFp antygen wykazano u 8,7% badanych. Technika PCR wyników dodatnich nie wykazano. Wśród pracowników administracji dodatnie wyniki badań IFp potwierdzono u 14,3%, natomiast metodą PCR – u 9,5%. Najwyższy odsetek wyników dodatnich stwierdzono w grupie pracowników dziekanatu, działu kadr i działu socjalnego; testem IFp stwierdzono 23,5% wyników dodatnich, a testem PCR – 17,6%.



Rycina 4. Częstość wykrywania *Chl. pneumoniae* z uwzględnieniem charakteru wykonywanej pracy u badanych metodą immunofluorescencji pośredniej (IFp)



Rycina 5. Częstość wykrywania *Chl. pneumoniae* z uwzględnieniem charakteru wykonywanej pracy u badanych metodą PCR

Dyskusja

Badania pracowników służby zdrowia w Japonii ($n = 1018$) wykazały, że w wymazach z nosogardzieli metodą PCR stwierdzono 1,4% wyników dodatnich [5]. Podobne odsetki uzyskali także inni autorzy, którzy uważają, że drobnoustroje te mogą występować u osób niezgłaszających objawów chorobowych ze strony dróg oddechowych [1, 2, 5]. W badaniach własnych uzyskano wyższe odsetki wyników dodatnich metodą PCR, powodem tej niezgodności może być brak standaryzacji testów użytych w badaniach. Poszczególne grupy badawcze używają innych primerów do identyfikacji DNA chlamydophili. W literaturze opisano przypadki bezobjawowej kolonizacji *Chl. pneumoniae* na błonach śluzowych nosogardzieli u dzieci zdrowych i przetrwałego nosicielstwa, po przebytych ostrym zakażeniu układu oddechowego lub zapaleniu zatok obocznych nosa, jednak rola nosicielstwa w epidemiologii zakażeń *Chl. pneumoniae* nie jest jednoznaczna [6].

Interpretacja bezobjawowego zakażenia bywa problematyczna, szczególnie gdy nie ma prawidłowej odpowiedzi serologicznej. U pacjentów z infekcją mieszaną może spowodować zaniechanie dalszej diagnostyki i spowodować, iż prawdziwy czynnik etiologiczny nie zostanie zidentyfikowany, a leczenie przyczynowe nie będzie zastosowane [2, 7].

Wnioski

1. Metodą IFp uzyskano 15% dodatnich wyników, natomiast techniką PCR stwierdzono niższy odsetek, tj, 8% wyników dodatnich w populacji ludzi zdrowych.
2. Częstość wykrywania *Chl. pneumoniae* w badanych grupach kobiet i mężczyzn była zróżnicowana i wynosiła odpowiednio: 14,9 i 15,4% dla metody IFp oraz 8,1 i 7,7% dla metody PCR.
3. Analiza wyników badań w kierunku *Chl. pneumoniae* w różnych grupach wiekowych wykazała, że wśród dorosłych najwyższy odsetek wyników dodatnich stwierdzono u osób w przedziale 30–49 lat.

Piśmiennictwo

1. Nitsch-Osuch A, Choroszy-Król I, Wardyn KA. Zakażenia wywołane przez *Chlamydia pneumoniae*. Wrocław: Wydawnictwo Medyczne Górnicki; 2001: 5–30.
2. Krenke R. *Chlamydomphila (Chlamydia) pneumoniae* jako czynnik zakażeń układu oddechowego. *Terapia* 2006; 14(2): 45–52.
3. Jama-Kmieciak A, Noga L, Choroszy-Król I. Diagnostyka zakażeń wywołanych *Chlamydomphila pneumoniae*. *Fam Med Prim Care Rev* 2010; 12(3): 920–926.
4. Choroszy-Król I, Niemiec J, Frej-Mądrzak M. Diagnostyka laboratoryjna i leczenie zakażeń wywołanych przez *Chlamydomphila pneumoniae*. *Fam Med Prim Care Rev* 2011; 13(2): 299–301.
5. Miyashita N, Nakajima M, Matsushima T. Prevalence of asymptomatic infection with *Chlamydia pneumoniae* in subjectively healthy adults. *Chest* 2001; 119: 1416–1419.
6. Pawlikowska M, Deptuła W. Chlamydie i chlamydophile u ludzi i zwierząt. *Rozprawy i Studia Uniw Szczec* 2012; T. (DCC-LXXIX) 815.
7. Skibińska A. Chlamydiozy. *Alergia* 2002; 3: 14.

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. Irena Choroszy-Król
Zakład Nauk Podstawowych UM
ul. Chałubińskiego 4
50-368 Wrocław
Tel.: 71 784-00-76
E-mail: irena.choroszy-krol@umed.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 15.01.2014 r.

Po recenzji: 14.04.2014 r.

Zaakceptowano do druku: 14.04.2014 r.