

Dijagnostika infekcija uzrokovanih bakterijom *Chlamydia trachomatis*

Grubišić, Ivanka

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:901330>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-02**

Repository / Repozitorij:



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
SVEUČILIŠTE U SPLITU

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Ivanka Grubišić

**DIJAGNOSTIKA INFEKCIJA UZROKOVANIH
BAKTERIJOM *Chlamydia trachomatis***

Završni rad

Split, 2016.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Ivanka Grubišić

**DIJAGNOSTIKA INFEKCIJA UZROKOVANIH
BAKTERIJOM *Chlamydia trachomatis***

DIAGNOSIS OF *Chlamydia trachomatis* INFECTIONS

Završni rad / Bachelor's thesis

Mentor:

Doc. prim. dr. sc. Vanja Kaliterna, dr. med., spec. medicinske mikrobiologije

Split, 2016.

Sadržaj

| | |
|--|----|
| 1. UVOD..... | 1 |
| 1.1. Bakterije iz roda <i>Chlamydia</i> | 1 |
| 1.1.1. Morfološke osobine bakterija iz roda <i>Chlamydia</i> | 1 |
| 1.2. <i>Chlamydia trachomatis</i> | 2 |
| 1.2.1. Epidemiologija infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Chlamydia trachomatis</i> . | 2 |
| 1.2.2. Patogeneza infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Chlamydia trachomatis</i> | 4 |
| 1.2.3. Klinička slika infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Chlamydia trachomatis</i> | 6 |
| 1.2.4. Laboratorijska dijagnostika klamidijske infekcije..... | 12 |
| 1.2.5. Terapija klamidijskih infekcija..... | 17 |
| 2. CILJ RADA..... | 18 |
| 3. IZVORI PODATAKA..... | 19 |
| 4. METODE | 20 |
| 4. 1. Uzorkovanje | 20 |
| 4. 2. Metoda amplifikacije nukleinskih kiselina..... | 24 |
| 5. ZAKLJUČCI | 32 |
| 6. SAŽETAK..... | 33 |
| 7. ABSTRACT | 34 |
| 8. LITERATURA | 35 |
| 9. ŽIVOTOPIS | 38 |

1. UVOD

1.1. Bakterije iz roda *Chlamydia*

Bakterije iz roda *Chlamydia* su sićušne, kugličaste, nepokretne, gram-negativne bakterije koje imaju unutarnju i vanjsku ovojnicu, sadrže RNK i DNK, prokariotske ribosome, stvaraju vlastite nukleinske kiseline, proteine, lipide. Osjetljive su prema antimikrobnim lijekovima. Imaju jedinstven način razvoja i razmnožavanja u kojem se javljaju dva oblika: jedan prilagođen preživljavanju zvan stanice i drugi metabolički i diobno aktivan, ali vezan za život unutar stanice. Zbog tih posebnosti rod *Chlamydia* je svrstan u jedinstven red *Chlamydiales* koji ima jednu porodicu *Chlamydiaceae*. Razlikuju se tri vrste *Chlamydia* koje uzrokuju bolest kod ljudi: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* i *Chlamydia psittaci*, a međusobno se razlikuju po specifičnom antigenu, prirodnom staništu, obliku elementarnog tjelešca, homologiji DNK, izgledu inkluzija i nazočnosti glikogena u njima, kao i po osjetljivosti prema sulfonamidima.

1.1.1. Morfološke osobine bakterija iz roda *Chlamydia*

Sve bakterije iz roda *Chlamydia* imaju sličnu morfologiju, dijele isti grupni antigen i razmnožavaju se u citoplazmi stanica domaćina karakterističnim razvojnim ciklusom. Smatraju se gram-negativnim bakterijama, ali im nedostaju mehanizmi za stvaranje energije i ne mogu sintetizirati adenozin trifosfat (ATP). Ovo ih prisiljava na unutarstanični život, gdje ih stanica domaćina opskrbljuje energijom bogatim spojevima. Stoga je *Chlamydia* obligatni unutarstanični parazit.

1.2. *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis (CT) prvi je put vizualizirana 1907. godine, a izolirana je iz spolnog sustava 1959. godine. Ona je sićušna, kokoidna, nepokretna gram-negativna bakterija, poznata i malena genoma. Obligatno je unutarstančna bakterija koja najčešće inficira skvamokolumnarni epitel. Pripada rodu *Chlamydia*, porodici *Chlamydiaceae* i redu *Chlamydiales*. *Chlamydia trachomatis* je uglavnom humani patogen. Postoji 15 serotipova (sojeva) koji uzrokuju nekoliko oblika bolesti. Ti sojevi svstani su u tri biovara: biovar trahoma, biovar limfogranuloma venereum (LGV) i mišji biovar. Najznačaniji su serovari od D do K, biovar trahoma i serovari LGV-biovara (L1 - L3) koji se prenose spolnim putem i uzrokuju spolnu bolest .

1.2.1. Epidemiologija infekcija uzrokovanih bakterijom *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis je najčešća spolno prenosiva bakterija. Jedan je od vodećih uzroka zdjelične upalne bolesti i neplodnosti u žena. Infekcija je najčešće asimptomatska, ali često uzrokuje ozbiljne komplikacije.

Predisponirajući čimbenici za klamidijsku genitalnu infekciju žena su: adolescencija, prethodne infekcije CT-om, rani početak spolne aktivnosti, učestalost i narav spolnog života (promiskuitet) odnosno broj spolnih partnera, cervikalna ektopija, niži socioekonomski status, vaginoza i vrsta kontracepcije tj. ne primjena barijernih metoda. Rizične skupine su: spolno aktivni mladi ljudi u dobi od 15 do 25 godina (čine oko 80% inficiranih), prostitutke (oko 30% inficiranih) i novorođenčad inficiranih trudnica. Klamidijska infekcija u Hrvatskoj spada u zarazne bolesti koje se prijavljuju na temelju Zakona o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti i Pravilnika o načinu prijavljivanja zaraznih bolesti.

Proširenost klamidijske genitalne infekcije

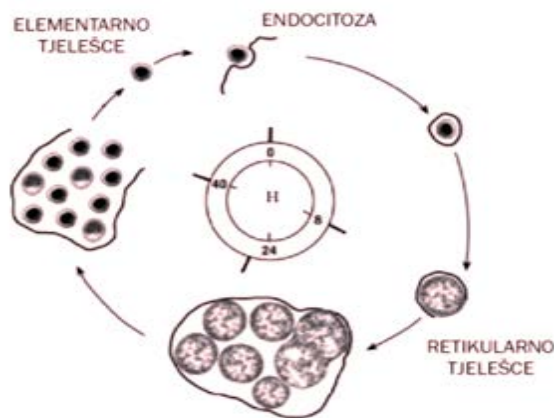
Godišnje se u svijetu registrira oko 700 milijuna slučajeva klamidijske genitalne infekcije, s oko 90 milijuna novih slučajeva. Ocjenjuje se da u Sjedinjenim Američkim Državama broj novih infekcija iznosi 4 milijuna na godinu, dok u Europi dostiže do 10 milijuna novih infekcija godišnje. Zbog različitih sustava prijavljivanja spolno prenosivih bolesti u različitim zemljama te imajući u vidu veliki broj asimptomatskih infekcija, procjene incidencije klamidijske genitalne infekcije samo su približne. Stvarna proširenost klamidijskih genitalnih infekcija bila bi 2 do 3 puta veća kada bi se uključile i kronične infekcije s blagim simptomima, kao i asimptomatski slučajevi genitalne klamidijske infekcije.

Prema laboratorijskim izvješćima u različitim županijama Hrvatske postotak pozitivnih uzoraka na CT iznosi oko 2 – 3 %. To se slaže s podacima za neke zemlje Europe, npr Slovenija ima 3,2 %, a Francuska 3% pozitivnih od ukupnog broja testiranih prema prijavama laboratorija. Klamidijska infekcija je znatno češća u adolescentnoj populaciji (mlađi od 25 godina) u kojoj se postotak pozitivnih kreće oko 10 %.

1.2.2. Patogeneza infekcija uzrokovanih bakterijom *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis prenosi se kontaktom: spolnim odnosom s inficiranim partnerom (vaginalni, oralni, analni odnos), očnim sekretom, prolaskom djeteta kroz porođajni kanal inficirane majke ili autoinokulacijom rukama na oko. Vjerojatnost prenošenja infekcije jednim spolnim odnosom je 20-50%.

Inicijalni odgovor organizma na infekciju je infiltracija neutrofila praćena limfocitima, makrofagima, plazma-stanicama i eozinofilima. Inficirane stanice otpuštaju citokin i interferon, što inicijalizira upalnu kaskadu. CT-infekcija uzrokuje humoralni imuni odgovor koji rezultira stvaranjem IgA, IgM i IgG protutijela i stanični imuni odgovor.



Slika 1. Životni ciklus klamidije

Klamidije se uobičajeno pojavljuju u dva morfološki i funkcionalno različita oblika: kao **elementarno tjelešće (ET)** i kao **retikularno tjelešće (RT)**. Elementarno tjelešće je zarazni oblik klamidija, koji može preživjeti izvan žive stanice domaćina. Retikularno tjelešće je veća metabolički aktivna čestica, koja se aktivno dijeli, ali ne može preživjeti izvan stanice domaćina pa nije zarazna. Razmnožavanje klamidija započinje spajanjem ET-a sa specifičnim receptorima na primljivim stanicama domaćina.

Životni ciklus, tj. replikacija nakon ulaska u stanicu traje 48 do 72 sata. Elementarno tjelešće se pričvrsti na stanicu domaćina, što inducira fagocitozu (endocitozu), pa na taj način ET ulazi u stanicu unutar vakuole (endosoma) dobivene od stanične opne

domaćina. Tijekom nekoliko sati od ulaska u stanicu nastaje niz promjena: sinteza DNK, RNK i proteina te se povećava citoplazma s ribosomima. Tako nastaje retikularno tjelešce koje se počinje dijeliti unutar vakuole, a ona se pri tome povećava. Zbog toga u citoplazmi stanice domaćina nastaju karakteristična klamidijska inkluzijska tjelešca. Retikularno tjelešce se smanjuje, puca vakuola, oslobađa se iz stanice domaćina kao ET i započinje novi ciklus infekcije (Slika 1).

Novije su studije pokazale važnost toplinskoga šoknog proteina (engl. *heat-shock protein* - HSP) u imunopatološkom odgovoru, koji se nalazi unutar glavnog proteina vanjske ovojnice (engl. *Major Outer Membrane Protein* - MOMP) . Wyrick i suradnici dokazali su u uvjetima *in vitro* da stanična stijenka, a time i njezini antigeni (MOMP i LPS) perzistiraju duže od 4 tjedna nakon djelovanja antibiotika izbora i stimuliraju migraciju polimorfonuklearnih leukocita. Glavni uzrok oštećenja tkiva je imunološki – odgođena reakcija kasne preosjetljivosti, kao odgovor na toplinski šokni protein. Tkiva se oštećuju s posljedičnim nastajanjem priraslica i ožiljaka, tube postaju neprohodne ili djelomično prohodne s džepovima što uzrokuje neplodnost i ektopične trudnoće.

1.2.3. Klinička slika infekcija uzrokovanih bakterijom *Chlamydia trachomatis*

Infekcija je asimptomatska u više od 80% žena pa se zbog toga i naziva tiha infekcija. Simptomi kao što su: cervicitis, vaginalni iscjedak, dizurija, bolnost u donjem dijelu trbuha, abnormalno vaginalno krvarenje, dispareunija, konjunktivitis, i proktitis, upućuju na znakove infekcije CT-om u žena. Treba razlikovati nekomplikiranu, komplikiranu i perzistentnu klamidijsku infekciju.

Nekomplikirana CT infekcija manifestira se:

- uretritisom
- proktitisom
- mukopurulentnim cervicitisom

Komplicirana infekcija uzrokuje ozbiljne komplikacije:

- bartolinitis
- zdjeličnu upalnu bolest
- perihepatitis
- reaktivni artritis
- tubularnu neplodnost
- ektopičnu trudnoću
- bolest novorođenčeta

Tablica 1. Klinički sindromi koje može uzrokovati *Chlamydia trachomatis*

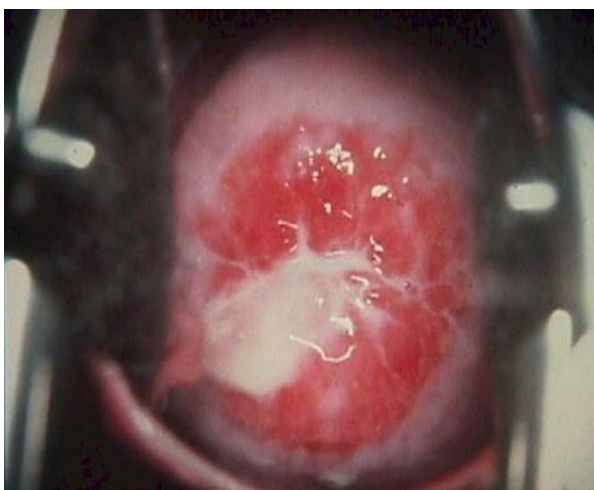
| |
|--|
| Uretritis |
| Mukopurulentni cervicitis |
| Zdjelična upalna bolest; endometritis, salpingitis |
| Perihepatitis |
| Bartolinitis |
| Proktitis |
| Konjunktivitis |
| Respiratorna infekcija gornjega dišnog sustava: rinitis, faringitis, bronhitis |
| Respiratorna infekcija donjega dišnog sustava: pneumonitis, pneumonija |
| Reiterov sindrom |

Cervicitis (mukopurulentni cervicitis - MPC)

Infekcija klamidijom često je asimptomatska, a samo u trećine žena s pozitivnim nalazom klamidije u cervikalnom obrisku se pri pregledu u spekulima vidi karakterističan nalaz MPC-a. Mukopurulentna cervikalna sluz pronalazi se u 37 % , a hipertrofična ektopija u 19 % inficiranih žena (Slika 2). Može se očitovati pojačanim vaginalnim sekretom, postkoitalnim krvarenjem i dispareunijom. Brunham i suradnici ističu važnost utvrđivanja broja polimorfonuklearnih leukocita (PML) u cervikalnoj sluzi. Više od 10 PML na svakom vidnom polju mikroskopa pri povećanju od 400 puta daje odličnu korelaciju s CT-infekcijom.

Kriteriji za postavljanje dijagnoze MPC-a su:

- Pozitivni swab-test: sluzavogojni, žutozeleni sadržaj na štapiću s vatom nakon enocervikalne manipulacije
- Više od 10 PMN leukocita u endocervikalnom eksudatu bojenom po Gramu u vidnom polju mikroskopa pri povećanju od 400 puta
- Cervicitis, tj. eritematozni i edematozni cerviks u zoni cervikalne ektopije



Slika 2. Cervicitis – mukopurulentni iscjedak

Urethritis

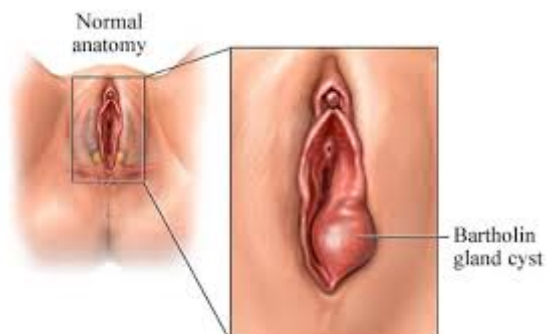
U bolesnica s disurijom i učestalim mokrenjem uz MPC treba posumnjati na klamidijski urethritis (Slika 3). CT se u 50% bolesnica nalazi i u cerviksu i uretri, a u 25% samo u cerviksu odnosno samo u uretri. S dobi se povećava vjerojatnost prisutnosti klamidije samo u uretri, a bez prisutnosti u cerviksu.



Slika 3. Urethritis

Bartolinitis (Abscessus glandulae Bartholini)

Bartolinijevu žlijezdu i njezin izvodni kanal oblaže cilindrični epitel, podložan CT-infekciji. Abscessus gl. Bartholini uzrokovan je u 30% oboljelih klamidijom (Slika 4). Stoga bi u cilju sprječavanja recidiva trebalo razmisliti o testiranju na CT tijekom marsupijalizacije.



Slika 4. Bartolinitis

Endometritis

Chlamydia trachomatis može se dokazati u endometriju 50% bolesnica s klamidijskim mukopurulentnim cervicitisom te u gotovo svih s CT-salpingitisom. Često se očituje abnormalnim vaginalnim krvarenjem. Novija prospektivna studija Cicellija i suradnika pokazuje da je najčešći uzročnik kroničnog endometritisa mikoplazma, a klamidija je druga po učestalosti.

Salpingitis

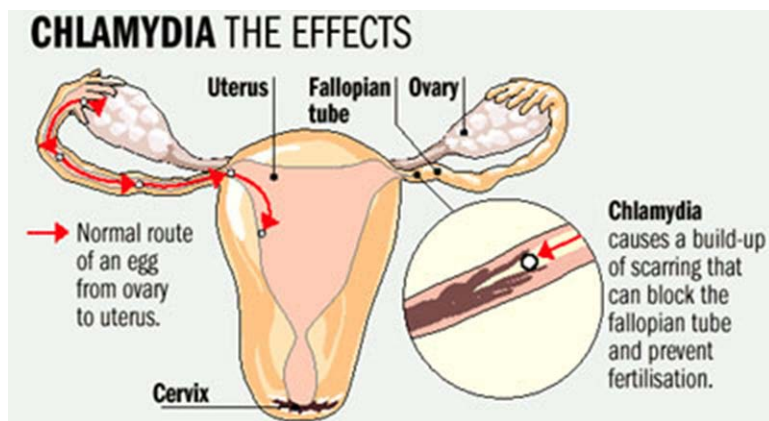
Chlamydia trachomatis je uz gonokoknu infekciju u mnogim istraživanjima izdvojena kao vodeći uzročnik salpingitisa. Važnost takve upale je u asimptomatskom tijeku koji često zbog ožiljkavanja tube neprimjetno uzrokuje neplodnost ili ektopične trudnoće.

Perihepatitis (syndroma Fitz-Hugh-Curtis)

Na perihepatitis uzrokovan CT treba posumnjati ako mlada, spolno aktivna žena osjeća bol u gornjem desnom abdominalnom kvadrantu, ima povišenu tjelesnu temperaturu, mučninu ili povraćanje. Pojavljuje se u 1-30 % oboljelih od zdjelične upalne bolesti.

Komplikacije klamidijske infekcije

Neliječena CT-infekcija može uzrokovati ozbiljne komplikacije. Ascendentna infekcija može uzrokovati: endometritis, salpingitis i zdjeličnu upalnu bolest tj. PID (engl. *Pelvic Inflammatory Disease*). Posljedično se mogu razviti neplodnost, ektopična trudnoća i kronična zdjelična bol (Slika 5).



Slika 5. Komplikacije klamidijske infekcije

***Chlamydia trachomatis* i trudnoća**

Trudnoća može biti predisponirajući čimbenik za infekciju CT-om zbog fiziološke imunosupresije i cervikalne ektopije. Danas se smatra da sama infekcija CT-om ima minimalan utjecaj na perinatalni ishod, no svakako može uzrokovati postpartalni endometritis i salpingitis, čak u 20 % puerpera.

Rizik infekcije novorođenčeta prilikom vaginalnog porođaja od inficirane majke je 60-70 %. U to se ubrajaju asimptomatska novorođenčad, kolonizacija nazofarinksa i djeca koja samo imaju pozitivan serološki test.

Djeca i klamidija

Dvije trećine novorođenčadi rođene od majki s genitalnom klamidijskom infekcijom (neliječeni klamidijski cervicitis) kolonizirani su klamidijom tijekom prolaska kroz porođajni kanal. Od novorođenčadi rođenih od inficiranih majki, 30-50 % razvije novorođenački klamidijski konjunktivitis (Slika 6), 15-20 % razvije nazofaringitis i 5-10 % klamidijsku pneumoniju. Asimptomatske infekcije ždrijela, genitalnog trakta i rektuma su također moguće. Pojava klamidijskog konjunktivitisa i pneumonije u novorođenčadi značajno je smanjena u onim zemljama gdje se redovito provode programi probira i liječenja klamidijske infekcije u trudnica.



Slika 6. Klamidijski konjunktivitis kod djece

Reaktivni artritis (syndroma Reiter)

Reaktivni artritis definira se kao član porodice spondiloartritisa, uzrokovan ekstraartikularnom infekcijom. Muškaci oko 9 puta češće obolijevaju od ovog sindroma. Očituje se asimetričnim oligoartritisom – najčešće donjih udova, konjunktivitisom i kožnim ili genitalnim osipom.

Ostale kliničke manifestacije klamidijske infekcije u žena i muškaraca

Konjunktivitis je upala očne spojnice. Nastaje direktnim kontaktom s infektivnim sekretima tijekom spolnog odnosa ili autoinokulacijom. Oko 1 % pacijenata s urogenitalnom klamidijskom infekcijom ima infekciju oka. Simptomi uključuju jednostranu bol oka, crvenilo i sekret iz oka (Slika 7).



Slika 7. Klamidijski konjunktivitis

Limfogranuloma venereum je spolno prenosiva bolest, najčešća u muškaraca u dobi od 20 do 30 godina. Uzrokovana je klamidijskim serotipovima L1, L2 i L3. Najveća prevalencija je u Africi, Aziji i Južnoj Americi, a u Europi je vrlo rijetka. Bolest se manifestira bolovima u limfnim čvorovima u preponama, u dvije trećine jednostrano. Neki pacijenti imaju i opće simptome kao vrućicu, zimicu, zakočenost vrata, bolove u mišićima i zglobovima.

1.2.4. Laboratorijska dijagnostika klamidijske infekcije

Spomenuti simptomi i znakovi su rijetki, pa je infekcija najčešće asimptomatska. Kako i asimptomatska infekcija često uzrokuje teške komplikacije, pravodobna dijagnoza je od osobite važnosti. Metoda dijagnostike bi trebala biti što osjetljivija i specifičnija, a ženama što jednostavnija i neinvazivnija.

Tablica 2. Dijagnostički postupci kod sumnje na urogenitalnu klamidijsku infekciju

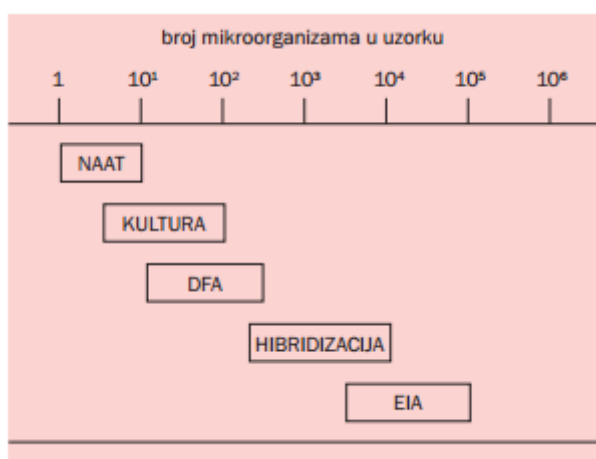
| Anamneza |
|---|
| Socioekonomska |
| Seksualno ponašanje |
| Vrsta kontracepcije |
| Preboljele spolno prenosive bolesti |
| Prethodne epizode klamidijske infekcije |
| Bolnost |
| Dizurija |
| Dispareunija |
| Vaginalni iscjedak |
| Status |
| Pregled u spekulima (tražiti znakove mukopurulentnog cervicitisa) |
| Kolposkopija (eventualno) |
| Bimanualni ginekološki pregled |
| Dijagnostičke metode |
| Transvaginalni ultrazvuk (tražiti znakove PID-a) |
| Cervikalni obrisci na klamidiju |
| Test na HIV (preporuka CDC-a) * |

* opravdanost u Hrvatskoj je zasad upitna zbog niske prevalencije

Anamneza bi trebala obuhvaćati pitanja o socioekonomskom statusu, seksualnom ponašanju, vrsti kontracepcije, preboljelim spolno prenosivim bolestima. Tijekom pregleda u spekulima valja pažljivo prikazati cerviks uterusa i tražiti znakove mukopurulentnog cervicitisa. Palpacijski treba tražiti bolnu osjetljivost uterusa i adneksa zbog eventualnog ascendentnog širenja upale te razvoja zdjelične upalne bolesti.

Urogenitalna infekcija CT-om u žena dijagnosticira se testiranjem obrisaka endocerviksa, vagine ili prvog mlaza urina. Rektalni se obrisak uzima pacijentima koji prakticiraju analni odnos, tj. kod sumnje na klamidijski proktitis.

Za ispitivanje klamidijske infekcije u spomenutim uzorcima mogu se rabiti tehnike: kultura stanica, direktna imunofluorescencija (engl. *direct fluorescent antibody* – DFA), enzimski imunoesej (engl. *enzyme immunoassay* – EIA), tekućinska hibridizacija nukleinske kiseline (engl. *hybrid capture*) i amplifikacija deoksiribonukleinske kiseline (engl. *nucleic acid amplification techniques* – NAAT). Treba znati da serološki testovi nisu korisni, osim u djece u dobi do 3 mjeseca, i to IgM-protutijela u dijagnostici CT-pneumonije. Na slici 8 prikazane su mogućnosti detekcije CT-a različitim testovima u odnosu na broj mikroorganizama koje je moguće detektirati, a u tablici 3. orijentacijska osjetljivost, specifičnost i vrijeme potrebno za izvođenje pojedinog testa.



Slika 8. Relativne mogućnosti detekcije CT-a različitim testovima u odnosu na broj mikroorganizama

Tablica 3. Osjetljivost i specifičnost dijagnostičkih testova na *C. trachomatis*

| Dijagnostički testovi | Osjetljivost (%) | Specifičnost (%) | Trajanje (h) |
|---|------------------|------------------|--------------|
| Izolacija na kulturi stanica | 70-85 | 100 | 48-72 |
| Direktna imunofluorescencija (Direct Fluorescent Antibody DFA) | 70-90 | 98-99 | 1/2 |
| Enzimski imunoesej (Enzyme immunoassay, EIA, ELISA) | 50-75 | > 99 | 3 |
| Hibridizacija nukleinske kiseline | 60-80 | 80-90 | 6 |
| Amplifikacija nukleinske kiseline (Nucleic Acid Amplification Tests – NAAT: PCR, LCR) | 80-95 | > 99 | 4-6 |

Izolacija na kulturi stanica (najčešće McCoyeva ili alternativno HeLa, BGMK, Hep-2, HL, Vero cell) nekad je bila zlatni standard u dijagnostici infekcije CT-om. To je u današnje vrijeme tradicionalna, spora (72 h), zahtjevna, skupa i slabo osjetljiva metoda, koja još primjenu u praksi ima samo u sudskoj medicini zbog otkrivanja isključivo živih CT-a i 100 %-tne specifičnosti.

Osjetljivost se povećava upotrebom endocervikalne četkice (ne u trudnica), pravilnom tehnikom uzimanja uzorka te što hitnijim transportom u laboratorij (bez zamrzavanja). Drvo inhibira detekciju CT-a, pa treba koristiti plastične štapiće za uzorkovanje.

Testovi amplifikacije deoksiribonukleinske kiseline (NAAT), kao lančana reakcija ligazom – LCR (engl. *ligase chain reaction*), lančana reakcija polimerazom – PCR (engl. *polymerase chain reaction*) i TMA (engl. *transcription-mediated amplification*). Ovi molekularni testovi su testovi izbora, tj. novi zlatni standard u dijagnostici urogenitalne infekcije CT-om. Iako je izolacija na kulturi stanica metoda s najvećom specifičnošću, molekularni testovi imaju najveću osjetljivost, tj. sposobnost da otkriju pozitivne pacijente zbog čega ga je Agencija za hranu i lijekove SAD-a (engl. *Food and Drug Administration* – FDA) odobrila za dijagnostiku CT-a.

PCR vaginalnog obriska ili prvog mlaza urina prema mnogima će biti budući (ponegdje već sadašnji) zlatni standard, zbog visoke osjetljivosti (90 %) i specifičnosti (100 %). Dodatna je prednost ove metode što žena može sama uzeti uzorak (urin ili vaginalni obrisak), pa ne mora odlaziti na dodatni ginekološki pregled. Prilikom samouzimanja urina preporučuje se uzeti početnih 10 - 20 mL urina, a ne sredinu mlaza kako se to preporučuje za urinokulturu. Na taj način će se sakupiti veći broj stanica, a to je važno jer CT živi intracelularno. Poželjno je ne mokriti prethodni sat do dva, a uzorak nakon uzimanja pohraniti na temperaturu od 2 do 8 °C.

Vrstu uzorka i test za laboratorijsku dijagnostiku treba pažljivo odabrati. Za probir, dakle za asimptomatske osobe, najjednostavniji, najneinvazivniji i najosjetljiviji test je PCR vaginalnog obriska ili urina. Simptomatskim ženama treba uzeti cervikalni obrisak tijekom ginekološkog pregleda za neki od testova detekcije nukleinske kiseline. Za potrebe sudske medicine zlatni standard je izolacija na kulturi stanica, jer je to test sa 100 %-tnom specifičnosti.

Klamidijska infekcija može se otkriti iz uzoraka: urina, obriska cerviksa, vagine, uretre, rektuma, konjunktive, nazofarinksa (za dob > 6 mjeseci) i obriska usne šupljine. Za dijagnostiku PID-a može se rabiti i biopat endometrija ili fimbrija tube uzet tijekom kiretaže ili histeroskopije, tj. laparoskopije ili laparotomije. Serologija određivanjem

IgM-protutijela prikladan je test za dijagnostiku CT-pneumonije u novorođenčadi, tj. za djecu mlađu od 3 mjeseca.

Dijagnostika perzistentne infekcije nije jednostavna. Pozitivan test na kladimiju s velikom sigurnošću upućuje na infekciju, no negativan test nije siguran pokazatelj da ispitanica nije inficirana. Klamidijska infekcija u domaćina uzrokuje otpuštanje γ -interferona, *in vitro* je dokazano da uzrokuje perzistenciju, prestanak produkcije stijenke, a time i MOMP-a. Većina starijih testova na CT temelji se na otkrivanju MOMP-a, pa se stoga takvi testovi ne mogu koristiti za otkrivanje perzistentne infekcije.

1.2.5. Terapija klamidijskih infekcija

Cilj liječenja je spriječiti razvoj ozbiljnih komplikacija kao i prijenosa infekcije na spolne partnere ili na novorođenče ako se radi o trudnici. Uvijek se moraju istodobno liječiti oba partnera. Treba preporučiti apstinenciju od spolnog odnosa tijekom liječenja barem sedam dana.

Liječenje izbora je antibioticima koji prodiru intracelularno: jednokratna doza azitromicina ili 7-dnevno liječenje doksiciklinom (Tablica 4).

Doksiciklin je antibiotik širokog spektra iz grupe tetraciklina, kontraindiciran je u trudnoći, tijekom dojenja i u male djece.

Azitromicin ima niz specifičnih značajki zbog kojih je nezamjenjiv u liječenju većine urogenitalnih i spolno prenosivih infekcija. Nakon peroralne primjene dobro se asorbira i brzo distribuira postizujući visoke koncentracije u inficiranim tkivima. Postiže višu koncentraciju u tkivu od one u serumu, nakuplja se intracelularno, što ga je u liječenju klamidijske infekcije dovelo na prvo mjesto. Nema teratogeni učinak pa je lijek izbora u liječenju većine urogenitalnih i spolno prenosivih infekcija kod trudnica.

Tablica 4. Liječenje infekcije uzrokovane bakterijom *Chlamydia trachomatis*, prema preporuci CDC-a

Preporučeni protokoli

- Azitromicin 1 gram per os – jednokratno
ILI
 - Doksiciklin 100 mg per os 2x1 kroz 7 dana
-

Terapija klamidijskog konjunktivitisa kod djece

Liječenje za novorođenački konjunktivitis je najčešće antibiotska mast (eritromicin mast). Može se davati i antibiotik *per os*. Preporučuje se eritromicin etilsukcinat u dozi od 12,5 mg/kg, svakih 6 h tijekom 2 tjedna.

2. CILJ RADA

Rad je napravljen u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku infekcija spolnoga sustava.

Cilj rada bio je dijagnosticirati bakteriju *Chlamydia trachomatis* na uzetom uzorku, u svrhu sprječavanja razvoja komplikacija koje bakterija može izazvati.

Kako je klamidijska infekcija najčešće bez simptoma, pravodobna dijagnoza je od osobite važnosti s obzirom na to da infekcija često uzrokuje teške komplikacije i jedan je od vodećih uzroka zdjelične upalne bolesti (engl. *Pelvic Inflammatory Disease* - PID) i neplodnosti žena.

Metode dijagnostike trebaju stoga biti što osjetljivije i specifičnije, a ženama što jednostavnijae i neinvazivnije.

3. IZVORI PODATAKA

Izvori podataka su rezultati rutinskog rada laboratorija za molekularnu dijagnostiku
Izvori podataka su rezultati rutinskog rada laboratorija za molekularnu dijagnostiku
infekcija spolnoga sustava u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko-
dalmatinske županije.

Tablica 5. Broj pozitivnih uzoraka na bakteriju *Chlamydia trachomatis* od ukupnog broja testiranih 2015. Godine u SDŽ.

| Žene | Ukupno | Pozitivne | Muškarci | Ukupno | Pozitivni |
|---------|--------|--------------|----------|--------|-------------|
| Sve | 6 840 | 200 (2,92 %) | svi | 1 326 | 42 (3,17 %) |
| < 25 g. | 1 059 | 69 (6,52 %) | < 25 g. | 162 | 9 (5,55 %) |
| > 25 g. | 5 781 | 131 (2,27 %) | > 25 g. | 1 164 | 33 (2,84 %) |

Tijekom 2015 godine u ovom laboratoriju obrađeno je molekularnom metodom (PCR) na klamidiju ukupno 8 166 uzoraka, od kojih su bila pozitivna 242 (2,96 %).

Od ukupnog broja testirano je 6 840 žena (pozitivnih 200 (2,92 %)) i 1 326 muškaraca (pozitivnih 42 (3,17 %)).

Prema navedenim podacima utvrđen je veći broj pozitivnih uzoraka u populaciji mlađoj od 25 godina.

4. METODE

4. 1. Uzorkovanje

Upute za uzimanje uzoraka za otkrivanje bakterije *Chlamydia trachomatis* metodom RealTime PCR

Za ispravno provođenje testa potrebno se striktno pridržavati uputa za uzimanje uzorka za molekularnu dijagnostiku CT-a.

METODA: Amplifikacija ciljne plazmidne DNK *Chlamydia trachomatis*

UZORAK: obrisak cerviksa, obrisak rodnice, obrisak uretre, urin u muškaraca i žena.

Napomene:

1. Uzorkovati obrisak za PAPA test **prije** uzimanja uzorka za DNK testiranje.
2. Uzorkovati obrisak za DNK testiranje **prije** premazivanja octenom kiselinom ili jodom, ako se radi kolposkopija.
3. Za uzorkovanje i transport koristiti medij za odgovarajuću metodu koja se radi **cobas PCR Female Swab Kit (Roche)**

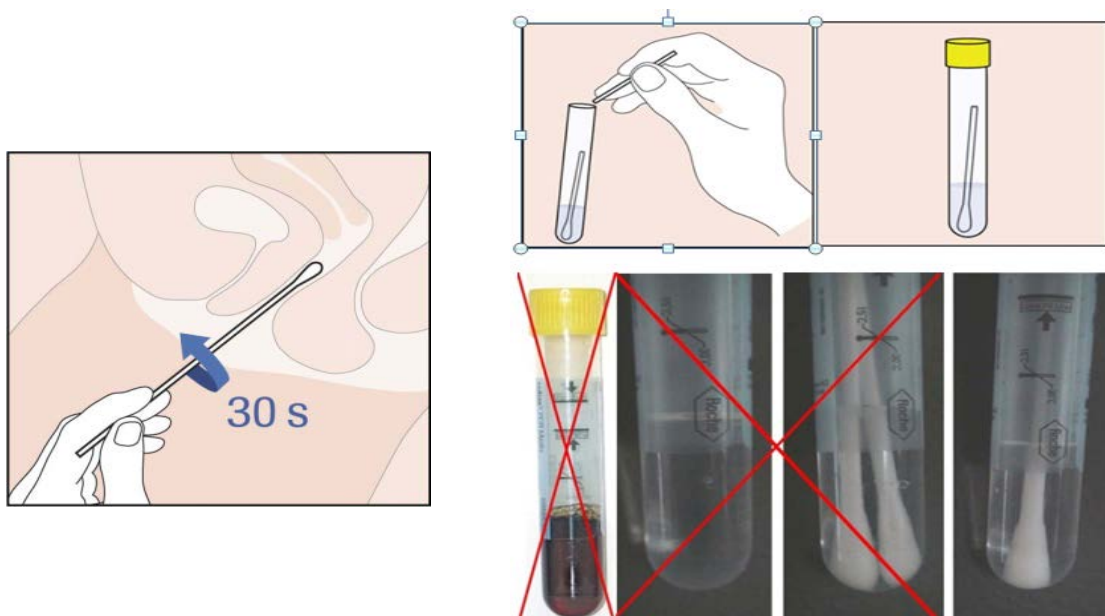


Slika 9. Transportni medij za uzimanje uzorka cervikalnog obriska

UZORKOVANJE OBRISKA CERVIKSA:

- odstraniti sluzni čep iz cerviksa 1. brisom (iz seta za uzorkovanje) kojeg treba odbaciti
- uvući 2. bris (iz seta za uzorkovanje) 1 - 1,5 cm u endocervikalni kanal
- rotirati bris 5 puta u jednom smjeru kako bi sakupili dovoljno epitelnih stanica
- izvući bris bez dodirivanja vaginalnog zida
- staviti bris u dno transportne epruvete, prelomiti štap brisa na označenom mjestu, ostaviti bris u epruveti i zatvoriti epruvetu
- obilježiti epruvetu: ime i prezime pacijenta

Uzorci se mogu transportirati i čuvati do 12 mjeseci na temperaturi 2 - 30 °C. Može se transportirati bez hladnjaka. Za duže čuvanje zamrznuti na -18 °C.



Slika 10. Uzorkovanje obriska cerviksa

UZIMANJE UZORKA URINA:

- ne mokriti 1 - 2 sata prije uzorkovanja
- koristiti sterilnu bočicu za uzimanje uzoraka urina
- uzeti prvi mlaz urina (prvih 10 - 20 ml urina)
- uzorak donijeti u laboratorij

Preporučeno je radije izabrati metodu obriska uretre nego urin, jer smo tako sigurniji u kvalitetu uzorka zbog količine epitelnih stanica.

U laboratoriju se određena količina ovako uzetog urina prebacuje u medij iz kojeg se dalje radi molekularna pretraga.

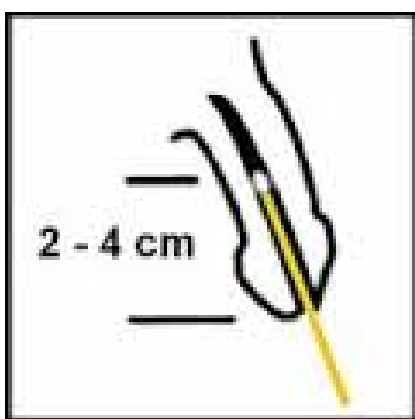


Slika 11. Bočica za uzorak urina

UZORKOVANJE OBRISKA URETRE

- ne mokriti 1 - 2 sata prije uzorkovanja
- uvući bris (iz seta za uzorkovanje) 2 - 4 cm u uretru
- rotirati bris 2 - 3 sekunde kako bi sakupili dovoljno epitelnih stanica
- polagano izvući bris
- za uzorkovanje i transport koristiti medij **cobas PCR Female Swab Kit** (Roche)
- staviti bris u dno transportne epruvete, prelomiti štap brisa na označenom mjestu, ostaviti bris u epruveti i zatvoriti epruvetu
- obilježiti epruvetu: ime i prezime pacijenta

Uzorci se mogu transportirati i čuvati na temperaturi 2 – 30 °C. Može se transportirati bez hladnjaka. Za duže čuvanje zamrznuti na -18 °C.



Slika 12. Uzimanje uzorka obriska uretre

4. 2. Metoda amplifikacije nukleinskih kiselina

Sustav Cobas 4800 služi za izvođenje kvalitativnih testova amplifikacije nukleinskih kiselina za detekciju bakterija *Chlamydia trachomatis* / *Neisseria gonorrhoeae* u kliničkim uzorcima, metodom *real-time* PCR (RT PCR) koja mjeri količinu DNK u uzorku u stvarnom vremenu, odnosno u kojem se ciklusu rada detektirala tražena DNK (što se ranije otkrije tražena DNK, upućuje na veću količinu DNK u uzorku).

Pribor i aparati:

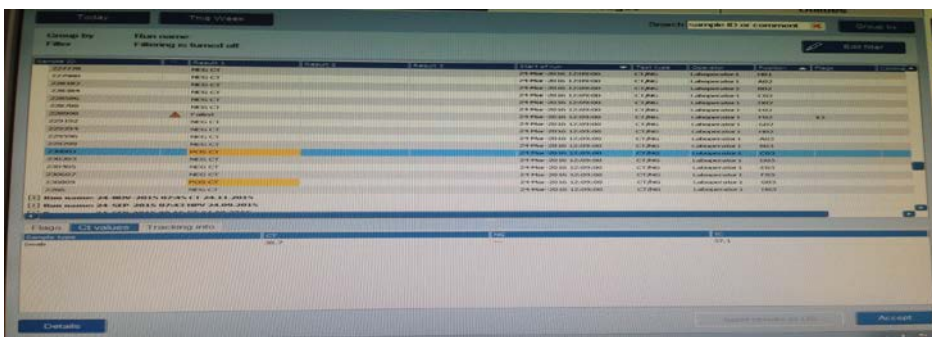
Roche Cobas 4800 sastoji se od:

- Računala (Cobas 4800 software, kontrolna jedinica)
- Roche Cobas x480 aparata
- Roche Cobas z480 analizator (PCR termoblok)

Cobas 4800 software i kontrolna jedinica

Software radi s posebnom kontrolnom jedinicom. Program vodi korisnika kroz cijeli proces od pripreme uzoraka do amplifikacije i otkrivanja DNK, te na kraju interpretacije rezultata (Slika 13). Ručni barkod čitač spojen je na kontrolnu jedinicu. Koristi se za skeniranje uzoraka i reagensa te za podešavanje radnih naloga datoteke.

Cobas sistem može biti spojen s laboratorijskim informatičkim sustavom (LIS-om). U tom slučaju nalozi se automatski preuzimaju iz LIS-a nakon što su uzorci stavljeni u Cobas aparat. Završeni rezultati se ručno unose u LIS.



Slika 13. Računalo, Cobas 4800 software

U aparatu za automatsku izolaciju **Roche Cobas x480** odvija se prvi dio metode – priprema i obrada uzoraka, izolacija DNK i dodavanje reakcijske smjese.

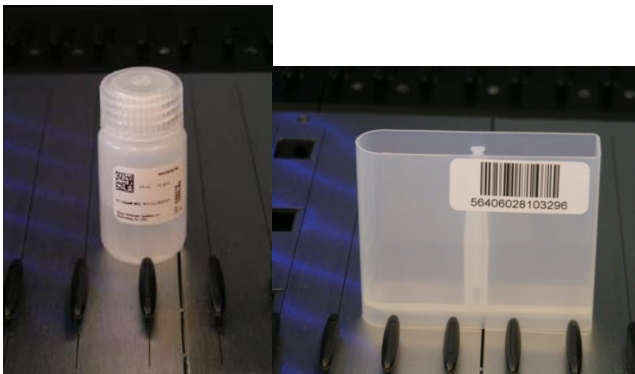
Na kraju ovog postupka uzorci su u mikrotitarskim pločicama spremni za postupak umnožavanja i otkrivanja DNK u PCR uređaju **Cobas z480**.

Reagensi potrebni za izolaciju i amplifikaciju DNK bakterije *Chlamidya trachomatis* u Sustavu Cobas 4800

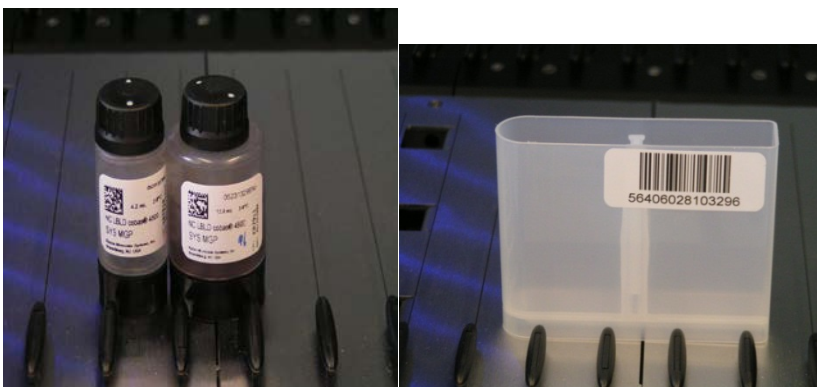
1. WB cobas 4800 System Wash Buffer Kit (sustav za ispiranje pufera)
2. Cobas 4800 System Sample Preparation Kit (komplet sa sustavom za pripremanje uzoraka)
 - MGP cobas 4800 System Magnetic Glass Particles (sustav s česticama magnetskog stakla)
 - EB cobas 4800 System Elution Buffer (sustav za ispiranje pufera)
3. Cobas 4800 CT/NG Amplification / Detection Kit
 - CT/NG MMX (cobas 4800 Master Mix)
 - Mn CT/NG
4. Cobas 4800 CT/NG Controls Kit
 - CT/NG (+), pozitivna kontrola
 - CT/NG (-), negativna kontrola
 - CT/NG IC (unutarnja kontrola)
5. Cobas 4800 System Control Diluent Kit



Slika 14. *Wash buffer*



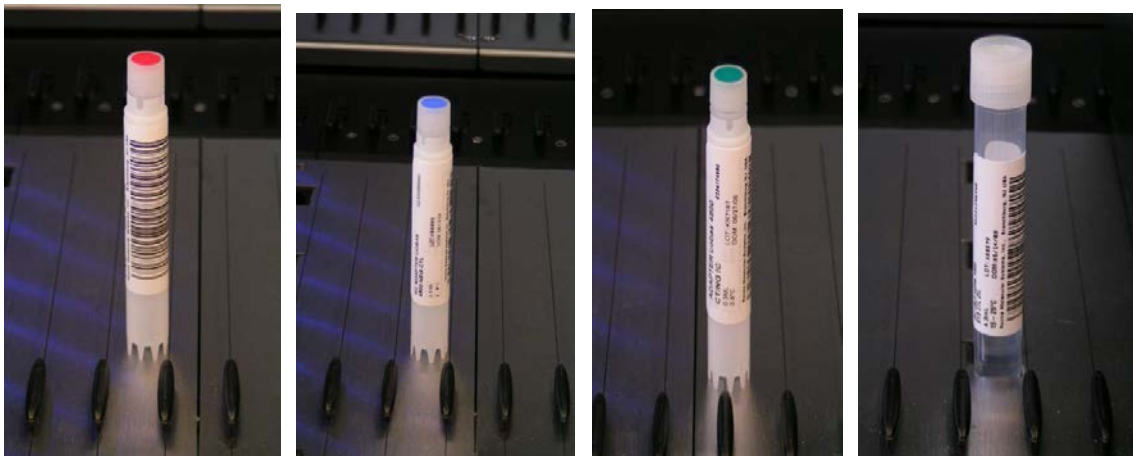
Slika 15. *Elution Buffer*



Slika 16. *Magnetic Glass Particles*



Slika 17. *Master Mix i Metal Ions (Mn²⁺): za CT*



Positive

Negative

Internal Control

Control Diluent

Slika 18. *Controls*

Cobas ×480 uređaj za automatsku pripremu uzoraka, izolaciju DNK i dodavanje reakcijske smjese ima sljedeće faze rada:

1. FAZA RADA

Punjenje aparata uzorcima (u specifičnim transportnim medijima), reagensa i potrošnog materijala

2. FAZA RADA

Automatska izolacija čiste DNK

3. FAZA RADA

Automatsko dodavanje reakcijske smjese (master-mix) izoliranoj DNK u drugoj fazi.

Na kraju ovog postupka pripremljeni uzorci su u mikrotitar pločici spremni za PCR.



Slika 19. Roche Cobas ×480 aparat

Cobas z480 analizator (PCR) za amplifikaciju i detekciju DNK

Mikrotitar pločica s pripremljenim uzorcima stavlja se u PCR uređaj. U njemu se umnožava tražena DNK, te se na kraju detektira koristeći fluorescentni signal.

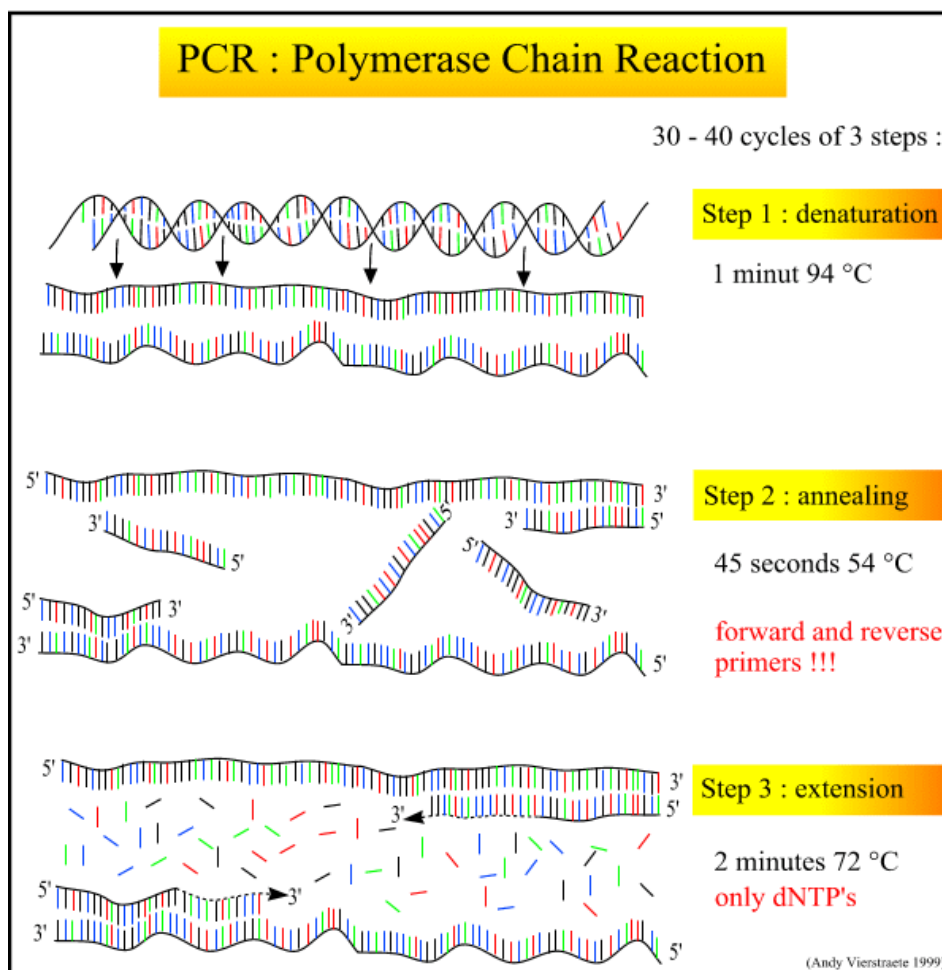


Slika 20. Roche Cobas z480 analizator

Princip:

Lančana reakcija polimerazom PCR – (engl *Polymerase Chain Reaction*) predstavlja replikaciju (prepisivanje, umnožavanje) DNK molekula in vitro. To je metoda kojom se relativno kratki dio DNK umnožava u veliki broj identičnih kopija. Metoda je u osnovi vrlo jednostavna. Ciljni dio DNK molekule koju želimo umnožiti određuje se kratkim olinukleotidnim ulomcima – početnicama (engl. *primer*) koji su komplementarni krajevima dijela DNK koju umnožavamo. Ove početnice su pokretači serijske reakcije pomoću enzima DNK *Polymeraze*, koja na kalupu jednog DNK lanca sintetizira novi komplementarni lanac, pri čemu dužina sintetiziranog dijela DNK molekule odgovara dužini koju omeđuju izabrane početnice.

PCR se izvodi ponavljanjem jednakih ciklusa (30 - 40 ciklusa) od kojih se svaki sastoji iz tri osnovne faze (Slika 21).



Slika 21. Princip rada PCR-a

1. Razdvajanje DNK:

Inicijalno denaturiranje DNK u trajanju od jedne minute na temperaturi od 94 °C (engl. *denaturation*). Pri tom se razdvajaju sparni lanci dvolančane DNK koji potom služe kao kalupi za amplifikaciju.

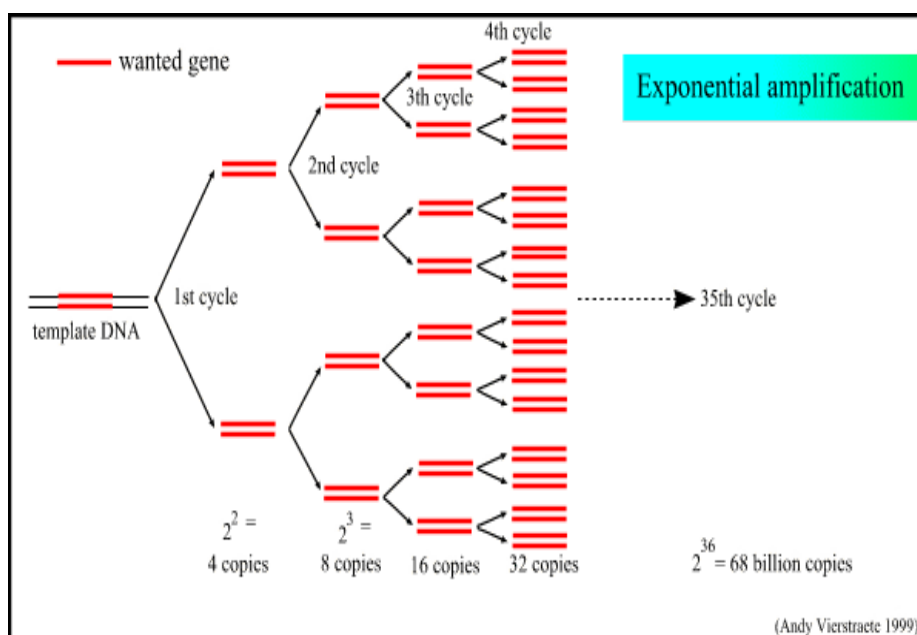
2. Sparivanje početnica s komplementarnim dijelovima DNK:

Hibridizacija početnica na komplementarne dijelove DNK (engl. *annealing*) - u tom procesu se temperatura snižava na 55 °C (50 - 60 °C) te se oligonukleotidni primeri vežu na komplementarne razdvojene lance DNK. Ova faza traje oko 45 sekundi u zavisnosti od dužine primera, jer je dužim primerima potrebno duže vrijeme za vezivanje.

3. Produljenje lanca:

Sinteza komplementarnog lanca - produljenje lanca (engl. *extension*) je na temperaturi od 72°C. Na toj temperaturi polimeraza započinje polimerizaciju i doseže maksimum aktivnosti. Trajanje ove faze iznosi 1 - 2 minute ovisno od dužine fragmenta koji se želi umnožiti. Pošto se na oba lanca odvija sinteza u jednom ciklusu amplifikacije će se broj DNK molekula udvostručiti. Postupak se u cijelosti ponavlja 30 - 40 ciklusa i na taj će se način broj novonastalih molekula DNK uvećati geometrijskom progresijom.

Reakcija će konačno biti ohlađena na 4 °C.



Slika 22. Eksponencijalno povećanje broja DNK molekula tijekom PCR reakcije

5. ZAKLJUČCI

Klamidije su gram negativne kugličaste bakterije čiji je soj *Chlamydia trachomatis* patogen za ljude te izaziva bolesti spolnoga sustava. Pretrage na klamidiju potrebno je provoditi kako u simptomatskih tako i u asimptomatskih osoba s ciljem ranog otkrivanja i liječenja infekcije, te na taj način preveniranja nastanka komplikacija klamidijske infekcije kao što su sterilitet i zdjelična upalna bolest. Pretrage treba provoditi kod mladih ljudi jer su adolescenti znatno češće zaraženi klamidijom, zbog mogućih posljedica na njihovu reprodukciju, kao i zbog neonatalnih komplikacija. Najbolja kontrola ove i svih spolno prenosivih bolesti je provođenje mjera prevencije (edukacijom adolescenata o ovoj bolesti kao i o prakticiranju sigurnog seksa), te postavljanje rane dijagnoze i liječenja inficiranih osoba.

Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) preporučuje jednom godišnje probir na klamidiju za sve spolno aktivne žene mlađe od 25 godina. Probir je moguće raditi bez ginekološkog pregleda iz neinvazivnog uzorka urina. Na taj način bi se lakše privolilo žene u najrizičnijoj dobnoj skupini na sistematske preglede, s ciljem što ranijeg otkrivanja klamidije, pravodobne terapije i sprječavanja neželjenih komplikacija.

Prema CDC-u, probir žena mlađih od 25 godina na *C.trachomatis* svrstan je u 10 najkorisnijih i najisplativijih preventivnih strategija. Takav pristup ulaganja u prevenciju i pravovremeno liječenje je u konačnici jeftiniji za zdravstveni sustav od liječenja posljedica neliječene klamidijske infekcije.

6. SAŽETAK

Uvod:

Chlamydia trachomatis (CT) je obvezna intracelularna patogena bakterija koja napada cilindrične stanice mokraćnog, spolnog, respiratornog sustava i konjunktive. CT uzrokuje infekcije spolnoga sustava (cervicitis, salpingitis, endometritis, zdjeličnu upalnu bolest, uretritis, epididimitis), inekcije oka odraslih (inkluzijski konjunktivitis) i neonatalne infekcije (konjunktivitis i pneumonija).

Infekcije uzrokovane klamidijama ubrajaju se među najčešće spolno prenosive bolesti. Smatra se da je incidencija klamidije znatno veća od broja prijavljenih slučajeva.

C.trachomatis se može jednostavno dijagnosticirati i liječiti. U današnje vrijeme su testovi izbora molekularni testovi amplifikacije nukleinske kiseline, zbog njihove visoke osjetljivosti kao i mogućnosti izvedbe testa u neinvazivnim uzorcima poput samouzetog uzorka obriska rodnice i prvoga mlaza urina. Mogućnost pretrage na DNK klamidije iz neinvazivnih uzoraka dodatno olakšava provođenje testiranja adolescentne populacije. Prema smjernicama CDC-a, klamidija se vrlo uspješno liječi jednokratnim uzimanjem 1 g azitromicina ili dva puta dnevno po 100 mg doksiciklina 7 dana (terapija se provodi kod svih pozitivnih spolnih partnera). Najveći problem klamidijskih infekcija je to što su one u najvećem broju slučajeva asimptomatske (do 70%), pa su neprepoznate i neliječene. Neliječena infekcija može dovesti do komplikacija s razvojem neželjenih posljedica (zdjelična upalna bolest, vanmaternična trudnoća, problemi u trudnoći i sterilitet). Stoga se, prema novijim smjernicama, preporuča godišnji „screening“ na *C.trachomatis* najugroženije populacije (mlađih od 25 godina). Neke zemlje već provode testiranje na klamidiju u sklopu standardne preventivne obrade. Cilj probira je pronaći ljude zaražene klamidijom među asimptomatskom, a rizičnom populacijom, te primjeniti terapiju za oboljele i zaražene partnere prije nastanka komplikacija. Klamidijska infekcija je glavni preventabilni čimbenik razvoja steriliteta u žena. Zbog toga je probir žena mlađih od 25 godina na *C.trachomatis* svrstan u 10 najkorisnijih i najisplativijih preventivnih strategija. Takav pristup ulaganja u prevenciju i pravovremeno liječenje je u konačnici jeftiniji za zdravstveni sustav od liječenja posljedica neliječene klamidijske infekcije.

7. ABSTRACT

Introduction:

Chlamydia trachomatis is an obligate intracellular bacterium that attacks columnar squamous epithelium of the urinary tract, reproductive tract, respiratory tract and conjunctiva.

Infections caused by *Chlamydia* are among the most common sexually transmitted diseases. It can be easily diagnosed and treated. Nucleic acid amplification tests are the test of choice because of their high sensitivity, and they can be performed on easily collected noninvasive specimens, such as self-collected vaginal swab or urine, that increase patient acceptability for testing. According to CDC recommendations, highly effective treatment options include single-dose oral azithromycin or 1-week course of doxycycline (with treating all positive sex partners). The most important problem of chlamydial infections is that they are generally asymptomatic (up to 70%), and they are often unrecognized and untreated. Left untreated, infection can lead to complications with serious consequences for female reproductive health (pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy, adverse pregnancy outcome, and infertility). The recent studies suggest a need to introduce annual screening for *C. trachomatis* for the most vulnerable populations (younger than 25 years). Some countries had already implemented the screening for *Chlamydia* as a standard preventive procedure. The aim of screening for CT infection is to find and treat asymptomatic cases and sexual partners before progressing to complications. Chlamydial infection is the most preventable cause of female infertility and adverse pregnancy outcome. Consequently, screening females aged < 25 years is ranked as one of the 10 most beneficial and cost-effective prevention strategies.

8. LITERATURA

1. Karelović D, Petrović P. *Chlamydia trachomatis* serotipa D do K u žena. U: Karelović D. I sur. Infekcije u ginekologiji i perinatologiji. Zagreb: Medicinska naklada; 2012, str. 420-33.
2. Mahony JB, Coombes BK, Chernesky MA. *Chlamydia and Chlamydophila*. U: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington, D.C.: ASM, 2003.
3. Jones RB, Batteiger BE. *Chlamydia trachomatis*. U: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia (Pennsylvania): Churchill Livingstone, 2000.
4. California STD/HIV Prevention Training Center and the California Chlamydia Action Coalition. Sexually Transmitted Chlamydial Infections: Continuing Education for Primary Care Clinicians. California STD/HIV Prevention Training Center, 2002.
5. Nelson HD, Helfand M. Screening for Chlamydial infection. Am J Prev Med 2001;20(suppl 3):95-107.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010. MMWR 2010;59(No.RR-12):44-9.
7. Centers for Disease Control and Prevention. CDC Grand Rounds: Chlamydia Prevention: Challenges and Strategies for Reducing Disease Burden and Sequelae. MMWR 2011;60(12):370-3.
8. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2008. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control, 2008.
9. ESSTI (European Surveillance of Sexually Transmitted Infections). Sexually transmitted infections surveillance in Europe. Health Protection Agency, 2008. No.3.

10. Centralized information system for infectious diseases (CISID) database [<http://data.euro.who.int/CISID/>] Copenhagen: World Health Organization Regional Office for Europe, 2010.
11. US Preventive Services Task Force. Screening for Chlamydial Infection: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. Ann Intern Med 2007;147(2):128-34. European centre for disease prevention and control (ECDC). Technical Report: Review of Chlamydia control activities in EU countries. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control, 2008.
12. Punda-Polić V. Klamidije. U: Kalenić S, Mlinarić- Missoni E, (ur.) Medicinska bakteriologija i mikologija. Zagreb: Merkur; 2001, str. 243-359.
13. Wyrick PB, Knight ST. Pre-exposure of infected human endometrial epithelial cells to penicillin in vitro renders Chlamydia trachomatis refractory to azithromycin. J Antimicrob Chemother 2004;54:789-85.
14. Brunham RC, Paavonen J, Stevens CE i sur. Mucopurulent cervicitis – the ignored counterpart in women of urethritis in men N Engl J Med 1984;5:311:1-6.
15. Osborne NG. Mucopurulent cervicitis. U: Mead P, Hager WD, Faro S, (ur.) Protocols for Infectious Disease in Obstetrics & Gynecology. Malden: Blackwell science; 2008, str. 308-13.
16. Kaliterna V. Dijagnostika infekcija spolnoga sustava. HČJZ 2006;2:6.
17. Jarža-Davila N, Marjan T. Dijagnostika infekcija spolnoga sustava u Zavodu za javno zdravstvo Grada Zagreba. HČJZ 2006;2:8.
18. Tićac B, Kesovija P, Sučić N, Ladavac A, Rukavina T. Infekcije bakterijom Chlamydia trachomatis u Primorsko-goranskoj županiji. Medicina 2009;45:381-8

19. Božičević I, Grgić I, Židovec-Lepej S et al. Urine-based testing for *Chlamydia trachomatis* among young adults in a population-based survey in Croatia: Feasibility and prevalence. BMC Public Health 2011,11:230.
20. Hirsl-Hećej V, Pustisek N, Sikanić-Dugić N, Domljan LM, Kani D. Prevalence of chlamydial genital infection and associated risk factors in adolescent females at an urban reproductive health care center in Croatia. Coll Antropol 2006;30 (suppl 2):131-7.
21. Kaliterna V, Kaliterna M, Pejković L, Barišić Z, Karin Ž. Postoji li potreba za uvođenjem probira na *Chlamydia trachomatis* u žena mlađih od 25 godina? Gynaecol Perinatolog 2012;21(3):96-9.

9. ŽIVOTOPIS

OPĆI PODACI

Ime i prezime: Ivanka Grubišić

Datum rođenja: 13.11.1978.

Adresa stanovanja: Put Sirobuje 6, Split

Bračni status: udana, majka troje djece

e-mail: ivanka.grubisic@yahoo.com

OBRAZOVANJE

1993. završila osnovnoškolsko obrazovanje

1997. maturirala u Zdravstvenoj školi Split; smjer zdravstveno-lab. tehničar

1998. započela stažiranje u NZJZ

1999. položila stručni ispit za zdravstvene tehničare laboratorijskog smjera

2012. upisala studij u Splitu, na Sveučilišnom odjelu zdravstvenih studija – Medicinsko laboratorijska dijagnostika

ZAPOSLENJE

2007. Medicinsko-biokemijski laboratorij „ANALIZA“

2008. do danas Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije

POPIS SLIKA I TABLICA

| | |
|--|----|
| Slika 1. Životni ciklus klamidije | 4 |
| Slika 2. Cervicitis | 7 |
| Slika 3. Uretritis..... | 8 |
| Slika 4. Bartolinitis | 8 |
| Slika 5. Komplikacije klamidijske infekcije..... | 9 |
| Slika 6. Klamidijski konjunktivitis kod djece | 10 |
| Slika 7. Klamidijski konjunktivitis..... | 11 |
| Slika 8. Relativne mogućnosti detekcije CT-a različitim testovima u odnosu na broj mikroorganizama | 13 |
| Slika 9. Transportni medij za vađenje uzorka cervikalnog brisa..... | 20 |
| Slika 10. Uzorkovanje obriska cerviksa | 21 |
| Slika 11. Uzorak urina | 22 |
| Slika 12. Uzimanje uzorka obriska uretre | 23 |
| Slika 13. Računalo, Cobas 4800 software | 24 |
| Slika 14. Wash buffer | 26 |
| Slika 15. Elution Buffer..... | 26 |
| Slika 16. Magnetic Glass Particles | 26 |
| Slika 17. Master Mix and Metal Ions (Mn ²⁺): za CT..... | 27 |
| Slika 18. Controls | 27 |
| Slika 19. Roche Cobas ×480 aparat..... | 28 |
| Slika 20. Roche Cobas z480 analizator | 29 |
| Slika 21. Princip rada PCR-a..... | 30 |
| Slika 22. Eksponencijalno povećanje broja DNK-a molekula tijekom PCR- reakcije .. | 31 |

| | |
|---|----|
| Tablica 1. Klinički sindromi koje može uzrokovati <i>Chlamydia trachomatis</i> | 6 |
| Tablica 2. Dijagnostički postupci kod sumnje na urogenitalnu infekciju klamidijom trahomatis (2)..... | 12 |
| Tablica 3. Osjetljivost i specifičnost dijagnostičkih testova na CT (2)..... | 14 |
| Tablica 4. Liječenje infekcije uzrokovane bakterijom <i>Chlamydia trachomatis</i> , prema preporuci CDC-a | 17 |
| Tablica 5. Broj pozitivnih uzoraka u SDŽ 2015. godine. Ukupno testiranih 8.166 – pozitivno 242 (2,96 %)..... | 20 |