

# Laboratórna diagnostika sexuálne prenosných infekcií

metódou Real-Time PCR



## Sexuálne prenosné ochorenia



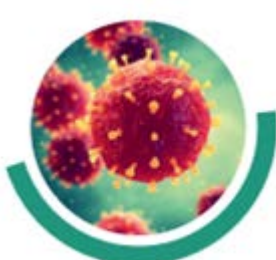
Viac ako 30 bakteriálnych, vírusových a parazitických patogénov sú potenciálnymi pôvodcami sexuálne prenosných ochorení (STD – *sexually transmitted diseases*). Ich symptómy sú nešpecifické, navyše, všetky STI sa môžu vyskytovať v asymptomatickej forme a infikované osoby ich nerozpoznajú. Takíto jedinci môžu prenášať infekcie na iných a môžu byť vystavení riziku komplikácií, medzi ktoré patria poruchy reprodukcie, neplodnosť, komplikácie počas tehotenstva alebo novorodeneckého obdobia a iné. Čím je infekcia skôr zistená a liečená, tým je väčšia šanca na zotavenie sa z nej bez komplikácií.

Baktérie	Huby	Mykoplazmy	Prvky	Vírusy
----------	------	------------	-------	--------



### Obligátne patogény

- Chlamydia trachomatis*
- Trichomonas vaginalis*
- Neisseria gonorrhoeae*
- Mycoplasma genitalium*
- Treponema pallidum*
- Haemophilus ducreyi*



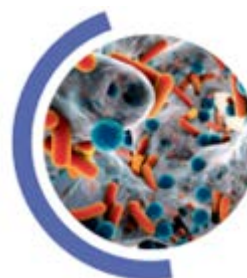
### Vírusové infekcie

- Vysoko rizikové HPV
- HSV 1, 2
- CMV
- HBV
- HCV
- HIV



### Huby

- Candida albicans*
- Candida glabrata*
- Candida tropicalis*
- Candida parapsilosis*
- Candida krusei*
- Candida guilliermondii*
- Candida famata*



### Podmienené patogény

- Gardnerella vaginalis*
- Mycoplasma hominis*
- Ureaplasma species*
- Atopobium vaginae*
- Prevotella species*
- Streptococcus species*
- Enterococcus species*
- Staphylococcus species*



- Zápalové procesy panvových orgánov
- Onkologické ochorenia
- Neplodnosť
- Mimomaternicové tehotenstvo

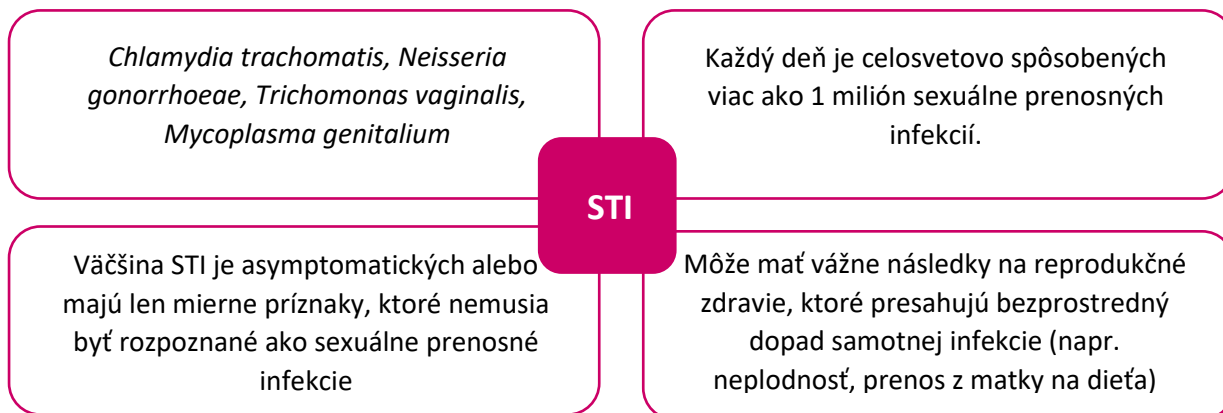
- Obštrukcia semenovodu
- Vznik azoospermie
- Neplodnosť

- Vrodené malformácie plodu
- Intrauterinná smrť plodu
- Zápalové procesy v rôznych orgánoch a tkanivách

*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* a *Trichomonas vaginalis* sú obligátne patogénne mikroorganizmy vyžadujúce liečbu, bez ohľadu na množstvo patogénu a prítomnosť alebo neprítomnosť klinických prejavov



## Hlavné sexuálne prenosné patogény



- veľké rozšírenie v populácii
- možná infekcia viacerými patogénmi súčasne
- podobné príznaky pri chorobách spôsobených rôznymi patogénmi
- môžu viesť k vážnym komplikáciám

## Laboratórna diagnostika sexuálne prenosných ochorení (STD)



molekulárno-biologické metódy



mikrobiologické metódy



bakteriologické metódy



imunologické metódy

**Vďaka zlepšenej presnosti testu, spracovania vzoriek a jednoduchosti skríningu má PCR metóda veľký potenciál v diagnostike STD:**

### Možnosti PCR metódy

- Stanovenie etiológie ochorenia vrátane identifikácie zmiešaných infekcií
- Skrínung asymptomatických foriem
- Genotypizácia, identifikácia bakteriálnych kmeňov
- Monitorovanie účinnosti liečby

## Indikácie na testovanie pohlavne prenosných infekcií

- Klinické a/alebo laboratórne príznaky zápalu orgánov UGT
- Vyšetrenie sexuálnych partnerov v štádiu plánovania tehotenstva
- Skríning žien počas tehotenstva
- Nadchádzajúce chirurgické (invazívne) manipulácie na panvových orgánoch
- Perinatálne straty a zhoršená pôrodnícka a gynekologická anamnéza, neplodnosť
- Sexuálny kontakt s chorým STI/neovereným partnerom



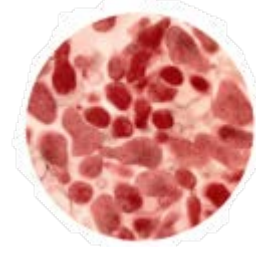


**Chlamydia trachomatis** – gramnegatívna baktéria, obligátny intracelulárny parazit

Ovplyvňuje urogenitálny systém, ale môže infikovať lymfatické uzliny, pľúca, spojovky, synoviálne membrány kĺbov, väzy, fascie

Spôsobuje uretritídu, cervicitídu, salpingitídu, trachóm, lymfogranuloma venereum, neonatálnu pneumóniu a konjunktivitídu

Vo väčšine prípadov je akútna infekcia nahradená chronickou a v 80% prípadov je u mužov a žien asymptomatická



**Mycoplasma genitalium** – najmenšia patogénna baktéria, bez bunkovej steny, intracelulárny parazit

Ovplyvňuje epitelové bunky urogenitálneho a dýchacieho traktu

Spôsobuje uretritídu, vaginitídu, salpingitídu a cervicitídu. Možný rozvoj zápalových ochorení panvových orgánov, epididymitídy, prostatitídy, cystitídy, pyelonefritídy, sekundárnej neplodnosti

Zle rozpoznávaný imunitným systémom, vyvoláva autoimunitné ochorenia

40% prípadov je asymptomatická u mužov a žien

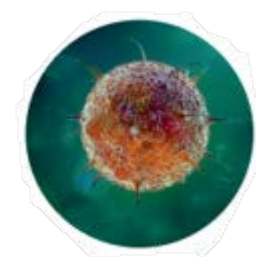


**Trichomonas vaginalis** – anaeróbný, pohyblivý, bičíkovitý prvok

Ovplyvňuje urogenitálny systém, ale môže infikovať dýchacie cesty

Spôsobuje uretritídu, cervicitídu a vaginitídu u žien, môže spôsobiť komplikované tehotenstvo, predčasný pôrod a nízku hmotnosť plodu

Asymptomatický prenos je bežnejší u mužov



**Neisseria gonorrhoeae** – gramnegatívna nepohyblivá baktéria

Kolonizuje sliznice urogenitálneho systému, anorektálnu oblasť, spojovky, muskuloskeletárny systém, orofaryng

Spôsobuje uretritídu, cervicitídu, proktitídu, salpingitídu. Môže viesť k mozgovému abscesu, artritíde, endokarditíde, meningitíde, myokarditíde, perikarditíde, peritonitíde, faryngitíde, pneumónii, sepe a kožným léziám

Pre ženy je typický asymptomatický prenos

## Predanalytická fáza je pre uskutočnenie veľmi dôležitá pre správne PCR testovanie

- Biologický materiál sa musí odobrať z miest údajnej lokalizácie patogénu.
- Preprava biomateriálu do laboratória musí byť vykonaná pri dodržaní teplotných podmienok a doby skladovania.
- Na kontrolu účinnosti terapie je potrebné dodržať termíny opakovaného odberu vzoriek biomateriálu.

## Materiál pre laboratórne testovanie



### U žien:

- výtok (ster) z uretry, krčka maternice, pošvy, dolnej časti konečníka
- prvá porcia ranného moču
- **pri indikáciách** – výtok z orofaryngu, veľkých vestibulárnych a parauretrálnych žliaz, sliznice oka



### U mužov:

- výtok (ster) z uretry
- prvá porcia ranného moču
- **pri indikáciách** – výtok z dolného rekta, orofaryngu, sliznice očí, sekret prostaty



### U novorodencov:

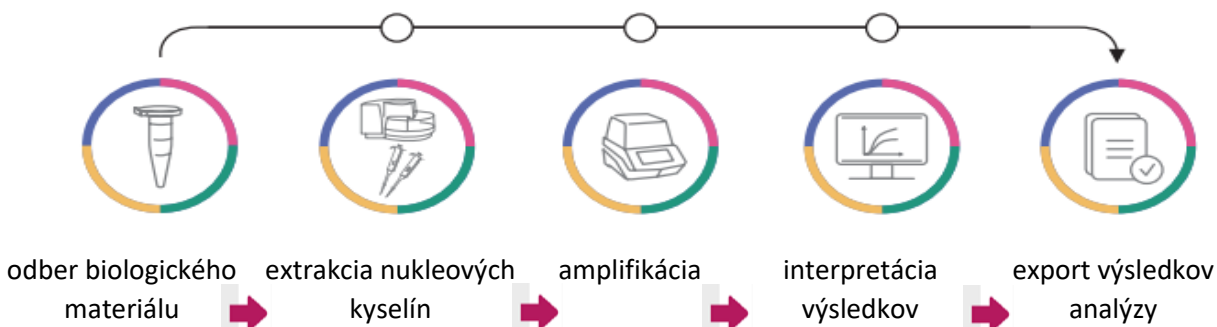
- bronchoalveolárna laváž
- hlien
- **pri indikáciách** – výtok z orofaryngu, spojovky

## Na kontrolu kvality odberu sterov z epitelálnych buniek je potrebné použiť súpravu „RealBest Validácia vzorky“

- Princíp validácie kvality odberu materiálu je založený na kvantitatívnom hodnotení obsahu ľudskej DNA v epitelálnych steroch.
- Nevyhnutné na zlepšenie spoľahlivosti výsledkov štúdií PCR.
- Môže sa použiť na kvantifikáciu obsahu patogénu vo vzorke.

Urogenitálne stery by mali obsahovať dostatok epitelových buniek.

## Technológia RealBest®: riešenie pre PCR diagnostiku sexuálne prenosných infekcií



## Izolácia nukleových kyselín možná v automatickom aj manuálnom režime



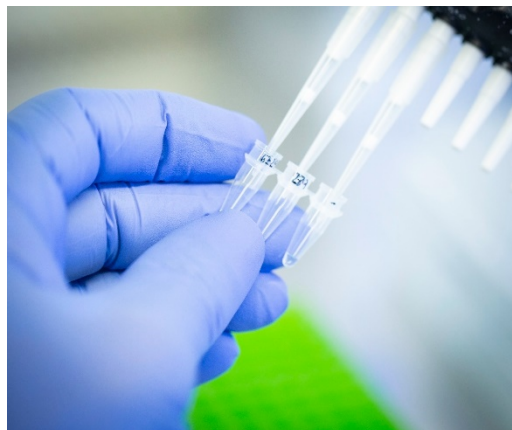
### Express – izolácia

- najrýchlejšia a najjednoduchšia
- ideálna na skrining



### Sorpcia na magnetické častice

- široká škála biologických materiálov
- účinné čistenie nukleových kyselín



## Súpravy "RealBest®" na diagnostiku sexuálne prenosných infekcií

- **Reakčná zmes pripravená na PCR:** stačí pridať izolovanú NA do skúmavky a spustiť reakciu
- **Multiplexnosť:** detekcia dvoch alebo viacerých infekčných markerov v jednej skúmavke
- **Univerzálny protokol**
- **Možnosť automatizácie:** zlepšenie kvality a kvantity štúdia
- **Jednoduché skladovanie a preprava:** nevyžaduje sa mrazenie

Kat. č.	Názov súpravy	Počet testov
<b>Extrakčné súpravy na izoláciu nukleových kyselín</b>		
8899	<b>RealBest DNA - express</b>	100
8878	<b>RealBest DNA-extrakcia 3 (variant 2x48)</b> (pre KingFisher Flex a TECAN Freedom EVO)	96 (2x48)
<b>Validácia odberu biologického materiálu</b>		
8888 €	<b>RealBest Validácia vzorky</b>	96
<b>Súpravy na detekciu sexuálne prenosných infekcií</b>		
1998	<b>RealBest DNA Chlamydia trachomatis</b>	96
2098 €	<b>RealBest DNA Trichomonas vaginalis</b>	96
4396 €	<b>RealBest DNA Mycoplasma genitalium</b>	96
4498 €	<b>RealBest DNA Neisseria gonorrhoeae</b>	96
4494 €	<b>RealBest DNA Neisseria gonorrhoeae (test 2)</b>	96
0455	<b>RealBest DNA Chlamydia trachomatis/Ureaplasma species</b>	96
0492	<b>RealBest DNA Chlamydia trachomatis/Ureaplasma urealyticum</b>	96
0490	<b>RealBest DNA Chlamydia trachomatis/Mycoplasma genitalium</b>	96
0498	<b>RealBest DNA Chlamydia trachomatis/Trichomonas vaginalis</b>	96
0457	<b>RealBest DNA Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</b>	96
0494 €	<b>RealBest DNA Mycoplasma hominis/Mycoplasma genitalium</b>	96
0496 €	<b>RealBest DNA Trichomonas vaginalis/Neisseria gonorrhoeae</b>	96
0477 €	<b>RealBest DNA Trichomonas vaginalis/Gardnerella vaginalis</b>	96
0444 €	<b>RealBest DNA Candida albicans/Gardnerella vaginalis</b>	96
0488	<b>RealBest PCR-12 STI</b> <i>Chlamydia trachomatis, Ureaplasma species, Mycoplasma hominis, Mycoplasma genitalium, Trichomonas vaginalis, Neisseria gonorrhoeae, Candida albicans, Gardnerella vaginalis, cytomegalovirus, herpes simplex virus 1 a 2, HPV 16 a 18</i> (diferenciálna diagnostika)	96

**Diagnostické centrum DNK, s.r.o.**

Brestová 14, 821 02 Bratislava

+421 911 299 324, +421 911 211 404

[dnk@pharma.sk](mailto:dnk@pharma.sk), [diagnostika@pharma.sk](mailto:diagnostika@pharma.sk)

[www.pcr.sk](http://www.pcr.sk)