

# Преваленција бактерије *Chlamydia trachomatis* код одраслих особа с хроничним конјунктивитисом у Нишком региону

Никола Инђић<sup>1</sup>, Љиљана Игић<sup>2</sup>, Александар Веселиновић<sup>3</sup>, Драган Веселиновић<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Завод за превентивну медицинску заштиту, Ниш, Србија;

<sup>2</sup>Офталмолошка ординација „Веселиновић“, Ниш, Србија;

<sup>3</sup>Клиника за очне болести, Клинички центар, Ниш, Србија

## КРАТАК САДРЖАЈ

**Увод** Међу обољењима које изазива бактерија *Chlamydia trachomatis* убрајају се и инфекције ока. Оне се испољавају као инклузиони конјунктивитис и трахом. Узрочник се преноси прљавим рукама, козметичким прибором за очи, медицинским инструментима и купањем у базену, а код новорођенчади проласком кроз инфицирани порођајни канал. Због неспецифичне клиничке слике на почетку инфекције, времена које се утврди на симптоматску, антиалергијску и неспецифичну антибиотску терапију, болесници долазе на циљну лабораторијску дијагностику у стадијуму хроничне конјунктивалне инфекције.

**Циљ рада** Циљ рада био је да се утврди учесталост откривања антигена *Chlamydia trachomatis* код одраслих особа Нишког региона с клиничком сликом хроничног конјунктивитиса у конјунктивалном и гениталном узорку епителних ћелија.

**Методе рада** Ретроспективна студија је обухватила 116 болесника (63 жене и 53 мушкарца) с клиничком сликом хроничног конјунктивитиса. Тестом директне имунофлуоресценције с моноклонским антителима доказиван је антиген *Chlamydia trachomatis*.

**Резултати** Антиген *Chlamydia trachomatis* је доказан код 37 испитаника (17 жена и 20 мушкараца). Код 33 болесника инфекција се испољила на оба ока, а код четири на једном оку. Од 24 болесника код којих је истовремено испитивано постојање антигена *Chlamydia trachomatis* у очима и гениталном тракту, код 19 је установљена удружена инфекција.

**Закључак** Бактерије су биле значајни узрочници хроничног конјунктивитиса код испитиваних болесника, а најчешћа је била *Chlamydia trachomatis*. Инфекција ока овим микроорганизмом чешће се јављала билатерално. Код већине испитаника дијагностикована је удружена очна и генитална инфекција хламидијом. Није утврђена статистички значајна разлика у оболевању у односу на пол.

**Кључне речи:** *Chlamydia trachomatis*; хронични конјунктивитис; инклузиони конјунктивитис; одрасли; тест директне имунофлуоресценције

## УВОД

Конјунктивитис је једно од најчешћих очних обољења [1]. То је запаљење вежњаче с васкуларном дилатацијом, ћелијском инфилтрацијом и ексудацијом. Узрочници могу бити инфективне (вируси, бактерије, паразити, гљивице) и неинфективне природе (алергија, хемијска средства, повреде). У акутној фази бактеријског конјунктивитиса запаљење почиње нагло осећањем гребана, боцкања и постојања страног тела. Јављају се црвенило ока, појачано лучење суза, секреција, фотофобија, слепљеност капака и умножавање лимфоидног ткива (фоликули и папиларна хипертрофија тарзуса). У хроничној фази такође је изражена иста субјективна симптоматологија, али с релативно оскудним објективним налазом [2]. Симптоми у хроничној фази који се јављају на једном оку или на оба ока трају дуже од три недеље с честим рецидивима [3].

Један од бактеријских узрочника конјунктивитиса је и *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), непокретни кокобацил који је облигатни интрацелуларни паразит еука-

риотске ћелије. Главни протеин спољне мембране (енгл. *major outer membrane protein* – *МОМР*) јесте њен доминантни антиген и поседује врсту и серотип специфичне антигенске детерминанте које се доказују серолошким тестовима уз коришћење моноклонских антитела.

Постоји 15 серотипова, од којих су серотипови А-К одговорни за инфекције ока. Серотиповима А-С настаје трахом, водећи узрок предупредивог слепила у свету и значајан здравствени проблем неразвијених земаља Африке, Азије и Средњег истока [4, 5]. Серотиповима D-К настаје инклузиони конјунктивитис, примарно полно преносива болест која се јавља код новорођенчади и одраслих особа. Чешће се јавља у подручјима умерене климе и развијенијим земљама, а његова инциденција је 1,7-24% код сексуално активног становништва [1]. Код њих се у 90% случајева бележи удружена очна и генитална инфекција [4]. Најчешћи пут преношења узрочника је аутоинокулацијом гениталног секрета или са ока на око [5]. Клиничка слика и компликације су блаже него код трахома. Преаурикуларни лимфни чво-

## Correspondence to:

Nikola INĐIĆ  
Kej Kola srpskih sestara bb  
18000 Niš  
Srbija  
indjicnikola@gmail.com

рови могу бити увећани, а код 14% болесника јавља се упала средњег ува као компликација [6].

Преваленција инфекције хламидијом трудница у Европи је 5% [1], а проласком кроз инфицирани порођајни канал мајке код 22-44% новорођенчади јавља се хламидијални конјунктивитис (сам или у склопу системске хламидијалне инфекције) [7]. На хламидијални конјунктивитис првенствено се сумња код особа које дају анамнестички податак о сексуалном контакту с инфицираном особом, код особа са знацима конјунктивитиса који траје дуже времена и где уобичајено симптоматско, антибактеријско и антиалергијско лечење није дало резултата.

Лабораторијске могућности у откривању и изолацији *C. trachomatis* су бројне, а деле се на директне и индиректне. Директне методе обухватају: директни микроскопски препарат бојен по Гимзи и Луголу; имунолошке методе за детекцију антигена, као што су тест директне имунофлуоресценције применом моноклонских антитела (*DIF*) и ензимски имуноесеј (*ELISA*); изолацију узročника код лабораторијских животиња, у жумањчаној кеси пилећег ембриона и на култури ћелија; и детекцију генома техником хибридизације нуклеинских киселина и техником амплификације гена (*PCR*). Индиректне методе обухватају тестове за доказивање специфичних антитела: реакција везивања комплемента (*RVK*), *ELISA* тест и тест индиректне имунофлуоресценције (*IIF*) [7].

Пошто је *C. trachomatis* унутарћелијски организам, не постоји могућност израде антибиограма. Клиничко искуство указује на то да тетрациклини, макролиди и хинолони могу бити успешни у лечењу [7]. За разлику од трахома, који упркос терапији може довести до слепила, напредовање инклузионог конјунктивитиса у хроничну фазу има обично добру прогнозу. Иако инфекција хламидијом изазива стварање *IgM*, *IgG*, *IgA* и *IgE* антитела, она немају заштитну улогу при поновној инфекцији [7].

## ЦИЉ РАДА

Циљ истраживања био је да се утврди учесталост откривања антигена *C. trachomatis* код одраслих особа Нишког региона с клиничком сликом хроничног конјунктивитиса у конјунктивалном и гениталном узorkу епителних ћелија.

## МЕТОДЕ РАДА

Урађена је ретроспективна анализа налаза конјунктивалних и гениталних брисева од јануара до децембра 2009. године код 116 болесника (63 жене и 53 мушкарца) с клиничким знацима и симптомима хроничног конјунктивитиса, који су трајали више од три недеље и код којих није дошло до клиничког побољшања након симптоматске, неспецифичне антибиотске (гентamicин, хлорамфеникол) и кортикостероидне терапије.

Стерилним брисом су, након уклањања секрета из очију, уз грубо трљање конјунктиве доњих капка скидани инфицирани епителни слојеви и наношени на тест-плочицу. Код шест испитаника који су имали промене на оба ока из економских разлога рађено је испитивање само једног ока с израженијим симптомима. Узорковани материјал је сушен на собној температури и фиксиран ацетоном.

Детекција антигена *C. trachomatis* рађена је тестом *DIF* према упутству произвођача (*Chlamydia Direct IF, bioMerieux, France*). На узорак је наношено 25  $\mu$ l раствора моноклонских антитела *C. trachomatis* обележених флуоресцеином и инкубирано 15 минута на собној температури. Након вишекратног испирања фосфатним пуфером (*pH* 7,2), препарат је сушен на собној температури. За детекцију антигена коришћен је флуоросцентни микроскоп *CX-41* (*Olympus, Japan*). Након уклапавања заштитног уља и додавања покровног стакла, препарат је прегледан микроскопом с објективима при увећачу од 40 и 100 пута, на таласној дужини емитованог светла од 490 nm. При валидној позитивној контроли узорак је проглашаван позитивним након налаза десет типичних елементарних и ретикуларних флуоресцентних тела, а према упутству произвођача у појединим ситуацијама број је модификован на основу личног искуства микроскописте.

Узорци су такође испитивани бактериолошки. Изолација је вршена на крвном агару, ендоагару и тиогликолатном бујону (*HIMedia, India*) 18-24 часа на 37°C, аеробном култивацијом. Идентификација изолата рађена је на основу морфолошког изгледа колонија, Грам-препарата и њихових биохемијских обележја.

Код 24 болесника са доказаном очном инфекцијом хламидијом вршено је и испитивање гениталних узорака (брисева уретре и цервикса) на присуство *C. trachomatis*.

Процена значајности утврђених разлика између група вршена је  $\chi^2$ -тестом. За статистичку обраду добијених података коришћен је програм *Epi info version 5.0.0*.

## РЕЗУЛТАТИ

Испитивани болесници имали су између 19 година и 64 године. Жена је било 63 (54,3%), а мушкараца 53 (45,7%). Код 71 испитаника бактеријски узročници хроничног конјунктивитиса нису доказани. Од 116 испитиваних болесника, код 37 (31,9%) узрок хроничног конјунктивитиса била је бактерија *C. trachomatis*: као једини изазивач у 28 случајева (24,1%), а удружено с аеробним бактеријама у девет (7,8%). Код 33 болесника (89,2%) инфекција се јавила на оба ока, а код четири испитаника (10,8%) на једном оку (Табела 1). Код 17 болесника дошло је до повећања аеробних патогених бактерија: код девет испитаника удружено с инфекцијом хламидијом, док су код осам болесника патогене аеробне бактерије биле једини утврђени микроорганизам (Табела 1). Најчешће су изоловане бактерије из рода *Staphylococcus* (*Staphylococcus aureus*) и фамилије *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*).

**Табела 1.** Учесталост изоловања бактеријских узрочника хроничног конјунктивитиса**Table 1.** Frequency of bacterial agents in chronic conjunctivitis

Пол Gender	Број испитаника Number of patients					
	Директна имунофлуоресценција Direct immunofluorescence				Бактериолошка култура Bacterial culture	
	<i>C. trachomatis</i>				<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	Испитивано Examined	Позитивно Positive	Билатерално Bilateral	Унилатерално Unilateral	Иzolовано Isolated	
Мушки / Male	53 (45.7%)	20 (54.1%)	18 (54.5%)	2 (50%)	4 (23.5%)	4 (23.5%)
Женски / Female	63 (54.3%)	17 (45.9%)	15 (45.5%)	2 (50%)	5 (29.5%)	4 (23.5%)
Укупно / Total	116 (100%)	37 (100%)	33 (100%)	4 (100%)	17 (100%)	

**Табела 2.** Приказ удружене хламидијалне и бактеријске инфекције ока  
**Table 2.** Presentation of associated Chlamydial and bacterial eye infections

Пол Gender	Број испитаника Number of patients		
	Очна инфекција Eye infection	Генитална инфекција Genital infection	Бактеријска инфекција Bacterial infection
Мушки Male	15 (62.5%)	11 (57.9%)	5 (55.6%)
Женски Female	9 (37.5%)	8 (42.1%)	4 (44.4%)
Укупно Total	24 (100%)	19 (100%)	9 (100%)

**Табела 3.** Распдела оболелих на основу старости**Table 3.** Distribution of patients according to age

Старост (године) Age (years)	Број жена Number of women		Број мушкараца Number of men	
	Испитиване Examined	Позитивне Positive	Испитивани Examined	Позитивни Positive
18-23	3	2	3	2
24-29	13	3	8	4
30-35	12	3	11	5
36-41	6	2	6	3
42-47	9	2	8	2
48-53	8	2	5	1
54-59	7	1	9	1
60-65	5	2	3	2
Укупно Total	63	17	53	20

Од 24 болесника код којих је истовремено рађено испитивање антигена *C. trachomatis* у очима и гениталном тракту, тзв. удружена инфекција хламидијом доказана је код 19 испитаника (79,2%). У девет случајева утврђена је удружена хламидијална и бактеријска инфекција (Табела 2).

Инфекција ока хламидијом се најчешће јављала код особа старих између 23 и 41 године (20; 54%), док се удружена инфекција хламидијом бележила искључиво у овој доби (Табела 3).

## ДИСКУСИЈА

Клиничким прегледом је тешко разликовати почетне стадијуме трахома и инклузионог конјунктивитиса. Епидемиолошки подаци о боравку у ендемским подручјима за трахом могу повећати клиничку сумњу, али је препорука да се користе услуге микробиолошке лабораторије. PCR је неприкосновена метода детекције,

квантификације и генотипизације *C. trachomatis* [8]. Због високе цене и захтевне опреме, примењује се у референтним лабораторијама. У клиничким лабораторијама се за детекцију антигена *C. trachomatis* најчешће примењују DIF и ELISA, које су високо специфичне и сензитивне методе [3], али не могу да доведу дијагностику до нивоа серотипа.

Иако нисмо били у могућности да урадимо серотипизацију *C. trachomatis*, сматрамо да су сви наши испитаници оболели од инклузионог конјунктивитиса, с обзиром на то да ниједан од њих није путовао у земље с ендемским трахомом и није имао типичне клиничке знаке трахома (панус, лимбални фоликули, Хербертове јамице, ожиљци на рожњачи).

У Србији и земљама у окружењу нису објављени подаци о преваленцији *C. trachomatis* код очних инфекција одраслих особа. Ретке су и публикације у свету, јер се већина аутора бавила инфекцијама код деце. Бактерија *C. trachomatis* је изолована код 31,9% болесника, што је слично резултатима других аутора. Копенсова (Coppens) и сарадници [9] утврдили су овај антиген код 28% болесника у Египту, а Лин (Lin) и сарадници [10] код 38% испитаника у Кини. Осташевска-Пухалска (Ostaszewska-Puchalska) и сарадници [11] забележили су 18,9% у Пољској, а Муњос (Muñoz) и сарадници [12] 20% у Перуу. Анализом броја испитаних и броја детектованих антигена није утврђена статистички значајна разлика ( $p \geq 0,05$ ) између наших и њихових резултата. Иако је код нас *C. trachomatis* чешће изолована код мушкараца, не постоји статистички значајна разлика у односу на пол ( $p \geq 0,05$ ), за разлику од пољских аутора [11], у чијој је студији учесталост детекције код жена била двоструко већа. Инфекција се код испитаника нашег истраживања чешће јављала на оба ока са статистички значајном разликом ( $p \leq 0,05$ ) у односу на унилатералну појаву, као и у пољској студији [11].

Удружена инфекција очију и гениталног тракта хламидијом дијагностикована је код 79,2% болесника. Генитална инфекција је, према анамнестичким подацима, у већини случајева била асимптоматска и чешћа код мушкараца, али без статистички значајне разлике ( $p \geq 0,05$ ) у односу на пол. Сличне резултате о удруженој инфекцији хламидијом приказали су и Осташевска-Пухалска и сарадници [11] (57,1%) и Цинкернагел (Zinkernagel) и сарадници [4] (90%). Ови резултати потврђују налазе да се инфекција ока преноси аутоинокулацијом инфицираног гениталног секрета и обавезују на истовремену системску и локалну примену ан-

тибиотики из групе тетрациклина или макролида или флуорохинолона код оба партнера [3, 7].

*C. trachomatis* је установљена у високом проценту код особа с хроничним конјунктивитисом, што обавезује клиничке лекаре да размишљају о овом микроорганизму када стандардна терапија не даје резултате. С обзиром на то да су код 24,3% болесника код којих је изолована *C. trachomatis* утврђене и друге бактерије, било би пожељно, кад год је то могуће, ускладити примену локалне терапије, тј. истим лековима деловати на оба агенса.

## ЗАКЉУЧАК

Бактерије као изазивачи хроничног конјунктивитиса доказане су код значајног процента испитаника, а *C. trachomatis* била је најчешћи узрочник. Инфекција хламидијом чешће се јављала на оба ока. Није утврђе-

на статистички значајна разлика у оболевању у односу на пол. Код већине болесника с инфекцијом ока хламидијом доказана је и генитална инфекција овим микроорганизмом, што потврђује теорију да се инфекција ока преноси аутоинокулацијом инфицираног гениталног секрета. Инфекција ока хламидијом најчешће се јављала код особа старих 23-41 годину. Код болесника с хроничним конјунктивитисом, поред стандардне микробиолошке дијагностике, треба укључити и тест за детекцију антигена *C. trachomatis*.

## ЗАХВАЛНИЦА

Захваљујемо мр Зорици Дакић из Службе за микробиологију Клиничког центра Србије на свесрдној техничкој помоћи, као и на стручним сугестијама током процеса настанка овога рада.

## ЛИТЕРАТУРА

- Lang KG, Lang EG. Conjunctiva. In: Lang KG, Amann J, Garies O, Lang EG, Recker D, Spraul C, Wagner P. Ophthalmology: A Short Textbook. Stuttgart: Thieme; 2000. p.74-93.
- Golubović S, Vežnjača. In: Golubović S, Cvetković D, Hentova-Senčanić P, Ignjačev M, Jovanović M, Kantić Đ, et al. Oftalmologija: udžbenik za studente medicine. 1st ed. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 2010. p.89-115.
- Rubenstein BJ, Virasch V. Conjunctival diseases. In: Yanoff M, Duker JS, editors. Ophthalmology. 3th ed. Edinburgh: Mosby Elsevier; 2009. p.228-32.
- Zinkernagel M, Catalano E, Ammann-Rauch D. Late-stage inclusion body conjunctivitis: trachoma? Br J Ophthalmol. 2007; 91:402-3.
- Kanski J. Klinička oftalmologija. 5th ed. Hong Kong: Data Status; 2004. p.70-3.
- Goh BT, Hadley JM, Lomax NJ, Patel HC, Viswalingam ND. Otitis media in adults with chlamydial conjunctivitis. Sex Trans Infect. 2006; 82:219-20.
- Stamm EW, Jones BR, Batteiger EB. Chlamydial diseases. In: Mandell G, Bennett J, Dolin R. Mandell, editors. Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Churchill Livingstone; 2005. p.2236-51.
- Mabey D, Solomon AW. Application of molecular tools in the control of blinding trachoma. Am J Trop Med Hyg. 2003; 69:11-7.
- Coppens I, Abu El-Asrar AM, Maudgal PC, Missotten L. Incidence and clinical presentation of chlamydial keratoconjunctivitis: a preliminary study. Int Ophthalmol. 1988; 12:203-5.
- Lin J, Li Y, Zhang J, Feng G, Zhang P, Zheng H, et al. Rapid diagnosis of chlamydial conjunctivitis in laboratory. Yan Ke Xue Bao. 1999; 15(3):191-4.
- Ostaszewska-Puchalska I, Zdrodowska-Stefanow B, Puciło K. Oculogenital Chlamydia trachomatis infections in adults. Wiad Lek. 2003; 56(9-10):425-9.
- Muñoz ZME, Caballero ÑP, Ayllón AC, Medina AS. Conjunctivitis follicular por Chlamydia trachomatis: Frecuencia y pruebas diagnósticas. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2007; 24(3):286-9.

## Prevalence of *Chlamydia trachomatis* in Adults with Chronic Conjunctivitis in Nišava District

Nikola Indjić<sup>1</sup>, Ljiljana Igić<sup>2</sup>, Aleksandar Veselinović<sup>3</sup>, Dragan Veselinović<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute for Preventive Medicine, Niš, Serbia;

<sup>2</sup>Ophthalmology Clinic „Veselinović“, Niš, Serbia;

<sup>3</sup>Institute of Ophthalmology, Clinical Centre of Niš, Niš, Serbia

### SUMMARY

**Introduction** *Chlamydia trachomatis* causes many infections, including eye infections. They manifest as inclusion conjunctivitis and trachoma. The agent is transmitted by dirty hands, eyeliners, medical instruments and via swimming-pool water or, in neonates, by passage through an infected birth canal. Due to the nonspecific clinical features at the beginning of the infection and delayed application of symptomatic, anti-allergic and non-specific antibiotic therapy, *Chlamydia* aetiology is usually established only after laboratory diagnosis in the chronic stage of infection.

**Objective** Determining the frequency of *Chlamydia trachomatis* antigen in conjunctival and genital samples of adult patients with chronic conjunctivitis in Nišava district.

**Methods** Our retrospective study was carried out on 116 patients (63 female and 53 male) with clinical signs and symptoms of chronic conjunctivitis. *Chlamydia trachomatis* antigen

was detected by a direct immunofluorescence test with labelled monoclonal antibodies.

**Results** From a total of 116 examined patients in 37 patients *Chlamydia trachomatis* antigen was detected; 17 female and 20 male. Thirty-three of the patients had a bilateral infection and four unilateral. Among 24 patients who were also tested for *Chlamydia trachomatis* antigen collected by ocular and genital swabs, 19 had conjunctivitis associated with urethritis/vaginitis.

**Conclusion** The studied group of patients showed that the common cause of the chronic conjunctivitis were bacteria, but predominantly *Chlamydia trachomatis*. In most cases Chlamydia infection occurred bilaterally. The majority of patients had eye Chlamydia infection associated with genital Chlamydia infection. There was no statistically significant difference in the presence of the disease regarding gender.

**Keywords:** *Chlamydia trachomatis*; chronic conjunctivitis; inclusion; adults; direct immunofluorescence test

Примљен • Received: 16/07/2010

Прихваћен • Accepted: 01/11/2010