



KLAMÜÜDIA LABORIDIAGNOSTIKA

Andrio Lahesaare PhD

Molekulaardiagnostika laborispetsialist

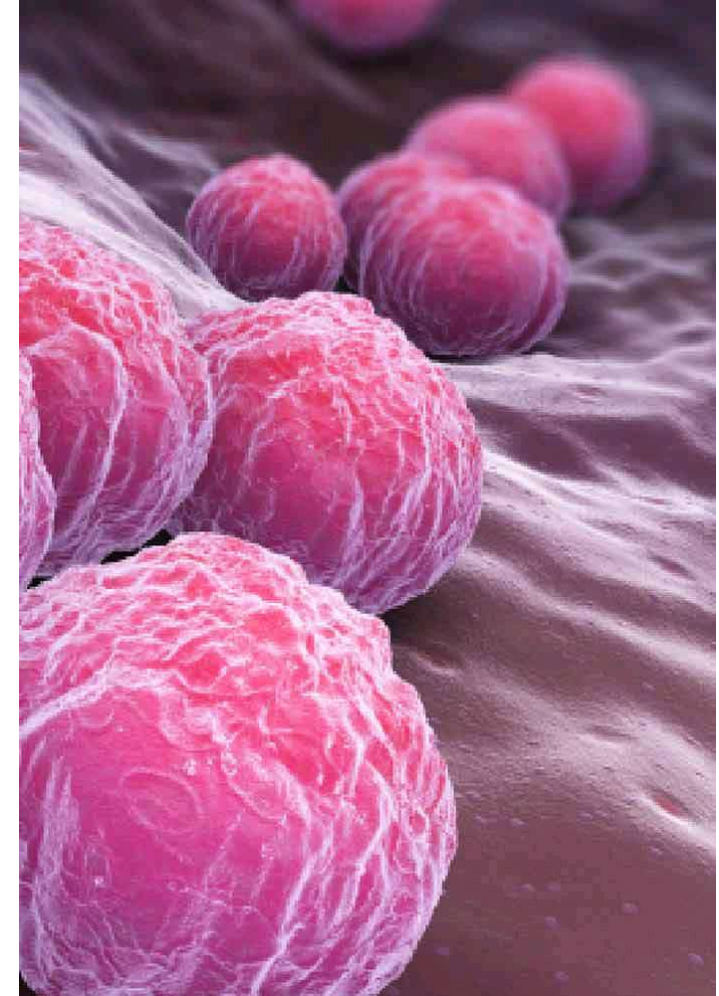
Tallinn 14.11.2019

MILLEST TULEB JUTTU?

- *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*
 - Lühiülevaade
 - Laboridiagnostika
- NAAT TESTID
 - Põhimõte
 - Eelised/puudused
- MUTEERUNUD *C. TRACHOMATIS* TÜVED
 - Rootsi variant (2006)
 - Soome variant (2019)

KLAMÜÜDIA

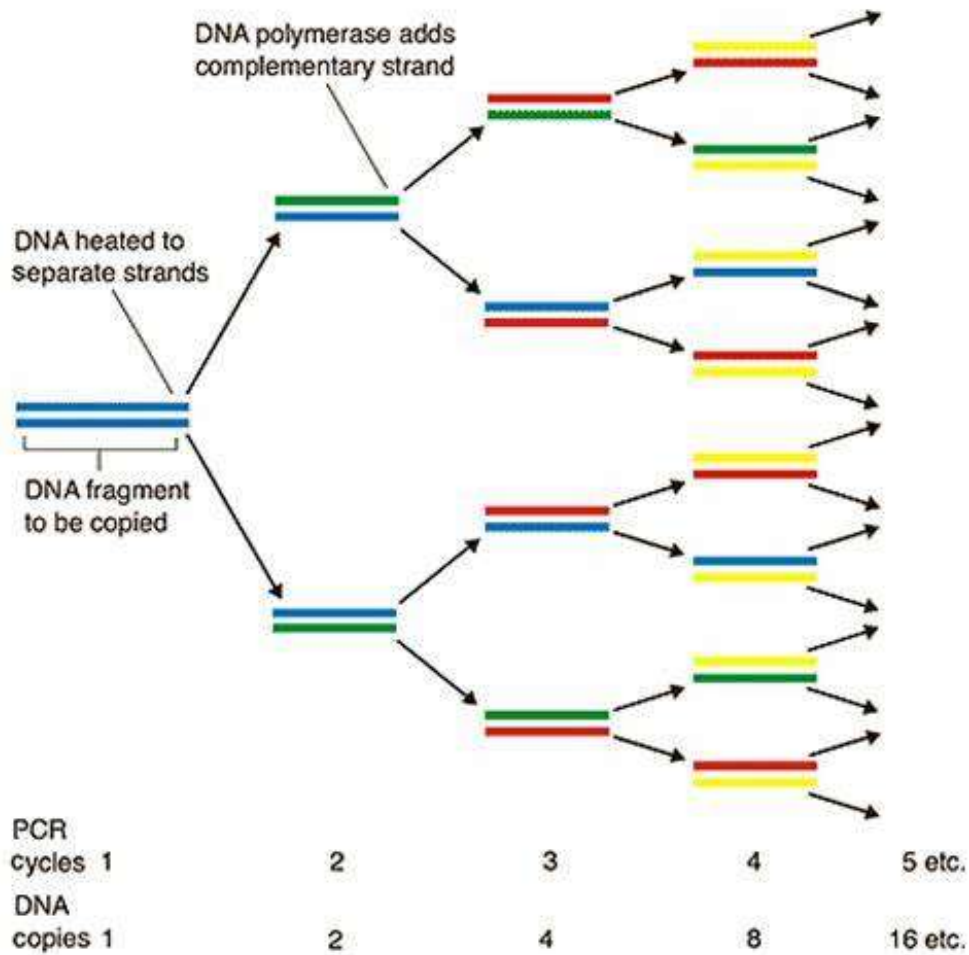
- Rakusisene patogeen *Chlamydia trachomatis*
- Genoom koosneb kromosoomist + plasmiidist
- Globaalselt kõige sagedasem sugulisel teel leviv bakter
 - 2016 a ECDC andmetel 26 riigis 400 000 registreeritud juhtumit
- Uretriit meestel, tservitsiit naistel
- Paljud infektsioonid asümptomaalsed



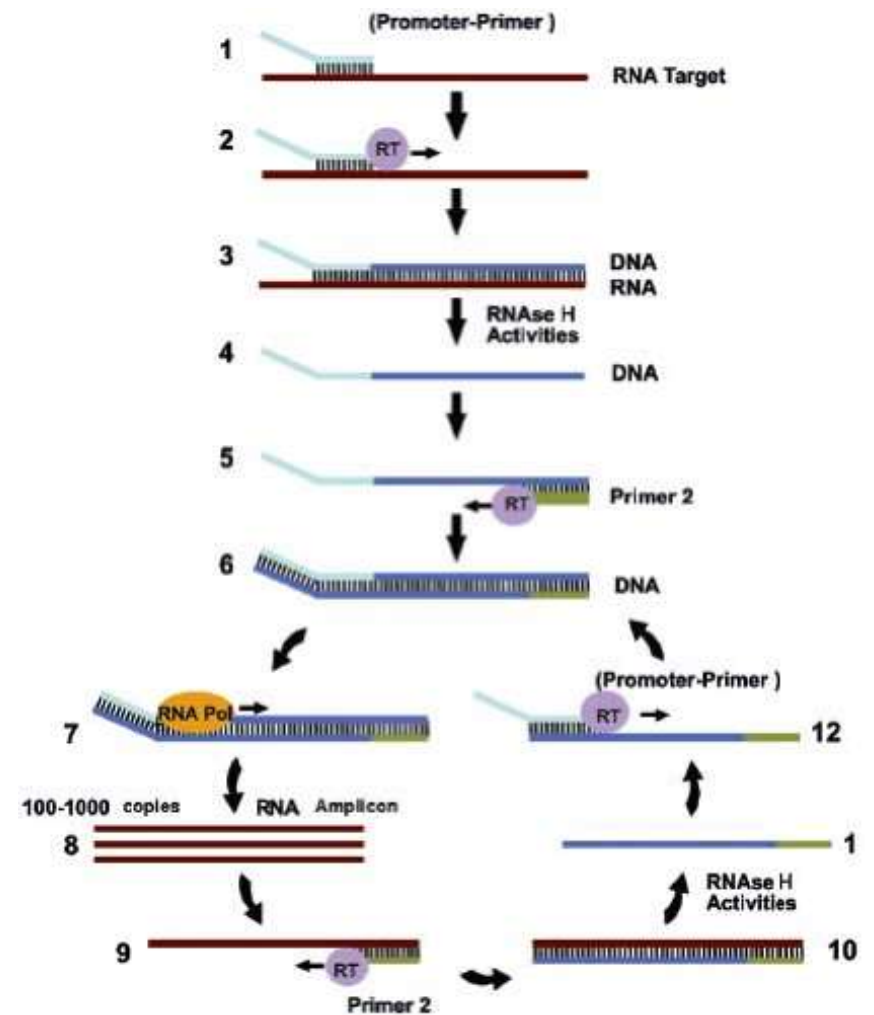
NAAT TESTID

- **NAAT – *Nucleic acid amplification test* (nukleiinhappe amplifikatsiooni test)**
- **Kiire, tundlik, spetsiifiline, usaldusväärne**
- **Tuvastatakse mikroorganismide DNA või RNA spetsiifilisi järjestusi**
- **PCR – *Polymerase chain reaction* (DNA)**
 - Abbot RealTime CT/NG
 - Roche Cobas CT/NG
 - Cepheid GeneXpert CT/NG
 - BD Max CT/GC/TV
- **TMA – *Transcription mediated amplification* (RNA)**
 - Hologic Aptima Combo 2 (AC2) CT/GC

PCR



TMA



VÄLJAKUTSED KLAMÜÜDIA DIAGNOSTIKAS

- **Bakterite geneetiline muteerumine**
 - Kohanemine keskkonnaga
 - Mutatsioonid, deletsioonid, insertioonid, horisontaalne geeniülekanne
- **Mutatsioonid NAAT testide määramispiirkondades – valenegatiivne/madala signaaliga tulemus**
 - Ühe-nukleotiidiline erinevus (SNP) hübridisatsiooniproovi järjestuses võib vähendada signaali 100%-lt kuni <1%-ni

ROOTSI MUTEERUNUD KLAMÜÜDIA (2006)

- **2006 a avastati Rootsis muteerunud *C. trachomatis* tüvi**
 - 5 a perioodi vältel oli klamüüdia nakkus vähenenud ca 25%¹
 - 377bp deletsioon *C. trachomatis* plasmiidis
 - Abbot ja Roche NAAT testid andsid negatiivse tulemuse
 - Hiljem lisati mõlemale testile juurde teine määramisregioon

1. Ripa et al., Euro Surveill 2006;11:E061109.1

SOOME MUTEERUNUD KLAMÜÜDIA (2019)

- 2019 a veebruaris Soomes juhtum, kus ühe testiga klamüüdia POS, teisega NEG (Hologic Aptima Combo 2 – AC2)
- Hiljem tuvastati ühe-nukleotiidiline mutatsioon AC2 testi määramisregioonis (23S rRNA geenis)
- Muteerunud tüvi andis AC2 testiga negatiivse/piiripealse tulemuse
- Seni on Soome nvCT-d leitud ka Rootsis ja Norras

1. Rantakokko-Jalava et al., Euro Surveill. 2019 May;24(22). doi: 10.2807/1560-7917
2. Hokynar et al., manuscript in preparation

Slide 8

EHS

Mille kohta viited on?

Erika Hallik, 24/09/2020

HOLOGIC APTIMA COMBO 2 (AC2) TEST

Target capture

- Bakterite lüüs, RNA vabanemine
- Bakterite RNA (23S rRNA) seotakse spetsiifiliselt magnetkeradele

Amplification

- Bakteri RNA amplifikatsioon läbi DNA vaheproduktide

Detection

- Amplifitseeritud RNA tuvastamine valgussignaalina (*Relative light units* – RLU)

23S rRNA geeni positsioonis 1515 C/T nukleotiidi asendus vaigistab AC2 testis *C. trachomatis* positiivse signaali

1. Rantakokko-Jalava et al., Euro Surveill. 2019 May;24(22). doi: 10.2807/1560-7917
2. Hokynar et al., manuscript in preparation

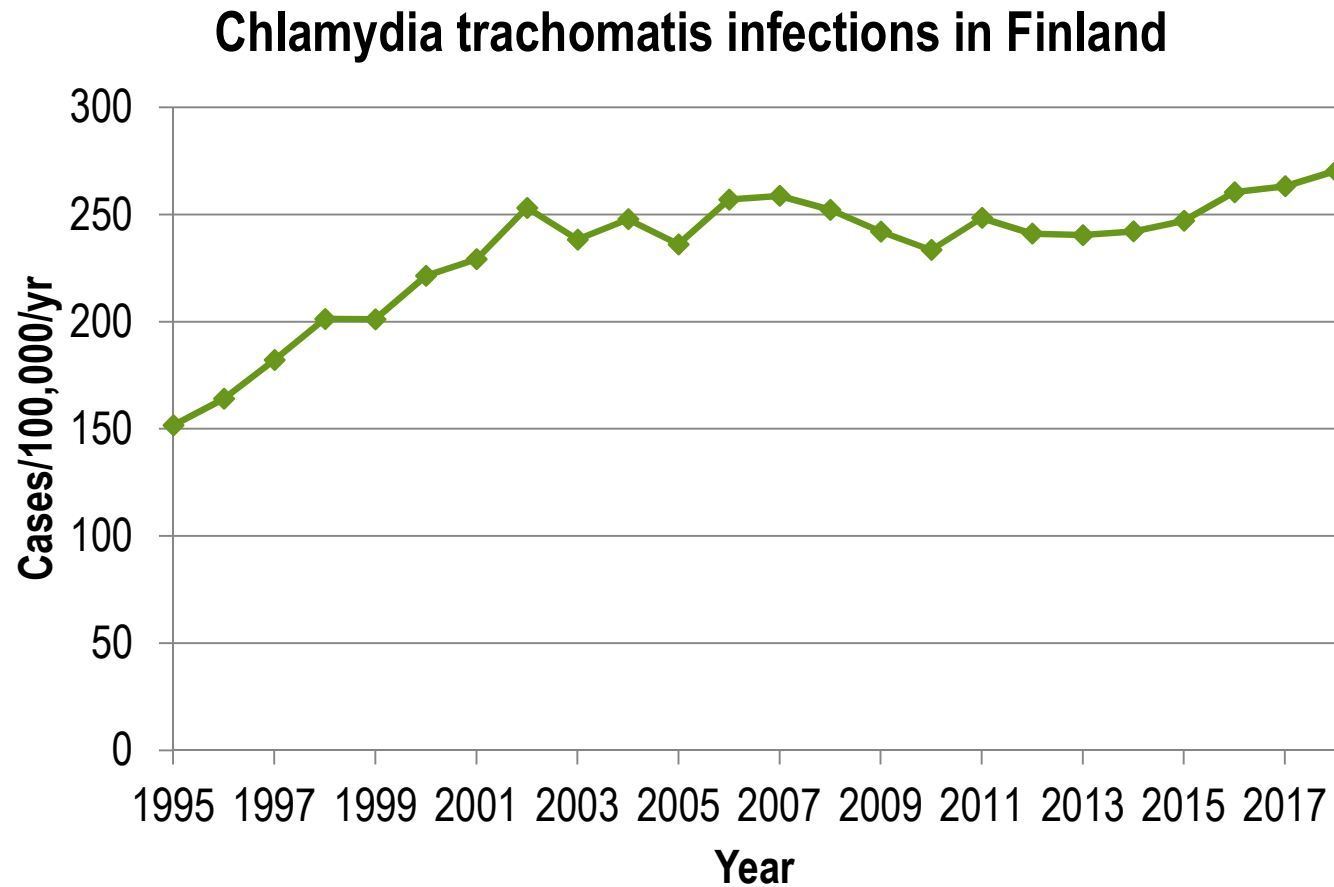
Slide 9

EH2

Mille kohta viide käib?

Erika Hallik, 22/09/2020

SOOME MUTEERUNUD KLAMÜÜDIA (2019)



1. Data from Finnish National Registry for Contagious Diseases, THL 2019

EH7

EH7

Mille kohta viide käib?

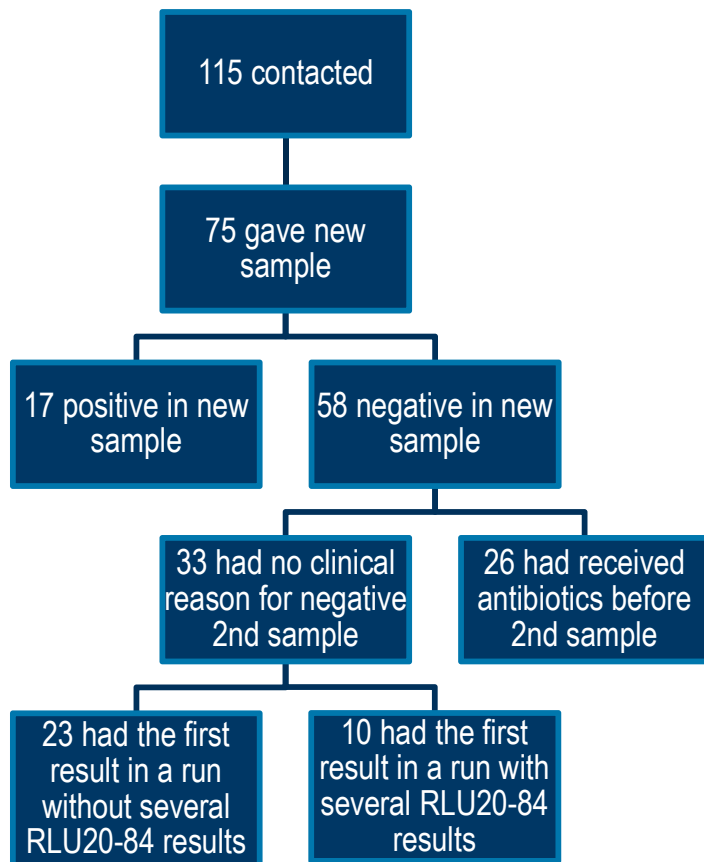
Erika Hallik, 24/09/2020

EH3

Mille kohta?

Erika Hallik, 22/09/2020

RESULTS FROM CONTACTING PATIENTS



- One of the customers (large private clinic chain terveystalo oy)¹ contacted systematically all the patients who had given RLU20-84 result in 5/2017-3/2019
- 22.7% were positive in the new sample
- When antibiotic treatment between the 1st and the new test was considered, 34% were positive (17/50)

→ UP TO 50% SPONTANEOUS CURE RATE IN 2 YRS

Dr. Jokiranta/SYNLAB Finland

EH4

1. Data: Anna-Mari Heikkinen et al., Terveystalo

EH4

Mille kohta?

Erika Hallik, 22/09/2020

MIDA ÕPPIDA NENDEST JUHTUMITEST?

- Mikroorganismide muteerumine võib ohustada NAAT laboriteste
- Negatiivsetele proovidele aeg-ajalt kontroll teise meetodikaga
- Kasutada kahte määramisregiooni NAAT testides
- Tähelepanelikult uurida juhtumeid, kus erinevate meetoditega saadakse erinevad tulemused
- Automatiseeritud jälgitavus (epidemioloogia, positiivsete määr, testide signaalitugevused jne)

SYNLAB EESTIS KASUTUSEL OLEV KLAMÜÜDIA TEST

- *In-house* test
 - PCR + detektsioon (Luminex XMAP tehnoloogial)
 - 2 määramisregiooni (kromosoom + plasmiid)
 - Tuvastab nii Soome kui ka Rootsi klamüüdia variante



KOKKUVÕTE

- NAAT testid on spetsiifilised, tundlikud ja usaldusväärsed, kuid mikroobide muteerumine võib neid teste ohustada
- *Chlamydia trachomatis* muteerumine lähiajaloo:
 - 2006 a avastatud nn Rootsi variant (Abbot ja Roche testid)
 - 2019 a avastatud nn Soome variant (Hologic AC2 test)
- Laboridiagnostika + statistika
 - Järsud muutused positiivsete leidude esinemissagedustes
 - Negatiivsed laboritulemused sümptomaatilistel patsientidel

