



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ. ΑΝΤΩΝΙΑΔΗΣ

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΜΟΛΥΝΣΕΩΝ ΜΕ
C. TRACHOMATIS ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΗΠΕΙΡΟΥ

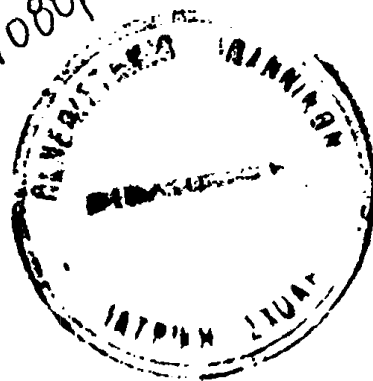
ΥΠΟ
ΔΗΜΗΤΡΙΟ ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ
ΒΙΟΛΟΓΟ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 1998



1088/99



**« Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα »
(Νόμος 5343/32, άρθρο 202 παρ. 2).**



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων καθηγητής:

Γ. ΑΝΤΩΝΙΑΔΗΣ, Καθηγητής Μικροβιολογίας

Μέλη:

Ε. ΜΠΕΖΙΡΤΖΟΓΛΟΥ, Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Χ. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ, Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας



ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γ. ΑΝΤΩΝΙΑΔΗΣ, Καθηγητής Μικροβιολογίας

Δ. Ε. ΛΩΛΗΣ, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας

Κ. ΨΥΛΛΑΣ, Καθηγητής Οφθαλμολογίας

Δ. ΣΤΕΦΑΝΟΥ, Επ. Καθηγητής Παθολογοανατομίας

Ε. ΜΠΕΖΙΡΤΖΟΓΛΟΥ, Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Χ. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ, Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Σ. ΛΕΒΕΙΔΙΩΤΟΥ, Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας



Στη Σύζυγό μου Σπυριδούλα και
στα παιδιά μου Χρήστο και Κωνσταντίνο

Στον Καθηγητή κ. Γ. Αντωνιάδη
με ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη και εκτίμηση

Στους γονείς μου



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	9
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
Α. ΙΣΤΟΡΙΑ	13
Β. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ CHLAMYDIA TRACHOMATIS	15
1 Ταξινόμηση	15
2 Μορφολογία και φύση του Chlamydia trachomatis - Σχέση με άλλους μικροοργανισμούς	16
3 Κύκλος ανάπτυξης του Chlamydia trachomatis	20
4 Αντιγονική σύσταση	21
Γ. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	23
1. Λοιμώξεις του οφθαλμού	23
2. Λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος των ανδρών	28
3. Λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος των γυναικών	33
4. Στείρωση - Επίδραση στο κύημα	41
5. Νεογνικές λοιμώξεις	42
6. Αφροδίσιο Λεμφοκοκκίωμα (L.G.V.)	46
Δ. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	53
1. Συλλογή δειγμάτων	53



	Σελίδα
2. Αναζήτηση χλαμυδίων με άμεση εξέταση επιχρισμάτων	56
3. Άμεση ανίχνευση χλαμυδιακού αντιγόνου με ανοσοενζυματική μέθοδο και υβριδισμό DNA	62
4. Καλλιέργεια –Απομόνωση C. Trachomatis	64
5. Ορολογικές μέθοδοι για την διάγνωση λοιμώξεων με το C. trachomatis	73
6. Η σκοπιμότητα εφαρμογής των ορολογικών μεθόδων στη διάγνωση των χλαμυδιακών λοιμώξεων	78
7. Τοπικά αντισώματα	80
8. Εργαστηριακές Τεχνικές	81
Ε. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	86
ΣΤ. ΘΕΡΑΠΕΙΑ	90
1. Εκλογή φαρμάκου	90
2. Θεραπεία χλαμυδιακών λοιμώξεων οφθαλμού	91
3. Θεραπεία χλαμυδιακών λοιμώξεων του γεννητικού συστήματος των ανδρών	92
4. Θεραπεία χλαμυδιακών λοιμώξεων του γεννητικού συστήματος των γυναικών	94
5. Θεραπεία μικτών λοιμώξεων από γονόκοκκο και C. trachomatis	95
6. Θεραπεία λοιμώξεων του νεογνού.	95



	Σελίδα
7. Θεραπεία Αφροδίσιου Λεμφοκοκκιώματος (L.G.V)	96
8. Διαγνώστικά και θεραπευτικά προβλήματα	97
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	99
ΣΚΟΠΟΣ	101
ΥΛΙΚΟ	102
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	104
A. Προσδιορισμός IgG αντισωμάτων έναντι <i>C. trachomatis</i>	104
B. Προσδιορισμός IgM και IgA αντισωμάτων έναντι <i>C. trachomatis</i>	112
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	163
ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	169
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	183
SUMMARY	185
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	187

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ανάπτυξη ανοσοενζυμικών μεθόδων για την διαπίστωση IgG, IgM και IgA αντισωμάτων έδωσε σήμερα νέα ώθηση στις οροεπιδημιολογικές μελέτες και στην ευχερέστερη ορολογική τυποποίηση του *Chlamydia trachomatis* με την απομόνωση ειδικών πρωτεϊνών του μικροοργανισμού.

Η μέθοδος ELISA δεν έχει χρησιμοποιηθεί μέχρι σήμερα στη χώρα μας για την επιδημιολογική διερεύνηση της συχνότητας μολύνσεων με *Chlamydia trachomatis*.

Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν η μελέτη της συχνότητας των αντισωμάτων IgG, IgM και IgA έναντι του *Chlamydia trachomatis* στην περιοχή της Ηπείρου με την μέθοδο ELISA. Για την επίτευξη της επιδημιολογικής μελέτης παρακινήθηκα από τον Καθηγητή της Μικροβιολογίας κ. Γρηγόριο Αντωνιάδη.

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε εξ' ολοκλήρου στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Γρηγόριο Αντωνιάδη.

Επιθυμώ να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου και τις ευχαριστίες μου στον Καθηγητή κ. Γρηγόριο Αντωνιάδη τόσο για την ανάθεση αυτής της εργασίας, όσο για τις πολύτιμες συμβουλές και υποδείξεις του, το απεριόριστο ενδιαφέρον του και την διαρκή και ακούραστη συμπαράστασή του σε όλα τα στάδια εκπόνησης αυτής της εργασίας.

Εκφράζω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στα μέλη της Συμβουλευτικής Επιτροπής, Επίκουρο Καθηγήτρια κα. Ευγενία Μπεζιρτζόγλου και Επίκουρο Καθηγήτρια κα. Χρυσάνθη Παπαδοπούλου για το ενδιαφέρον που υπέδειξαν κατά την εκτέλεση αυτής της εργασίας και την συγγραφή του τελικού κειμένου.



Επίσης εκφράζω τις ευχαριστίες μου στα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής, Καθηγητές κκ. Δημήτριο Λώλη και Κωνσταντίνο Ψύλλα, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Δημήτριο Στεφάνου και την Επίκουρο Καθηγήτρια Σταματίνα Λεβειδιώτου για τις πολύτιμες υποδείξεις τους.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ την ΕΜΥ του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας κα. Αθηνά Πανάγιου για το αμέριστο ενδιαφέρον της και την συνεχή προσφορά βοήθειας κατά την εκτέλεση αυτής της εργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ τα μέλη ΕΔΤΠ του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας κα. Όλγα Σάρρα και κα. Ελευθερία Τσιάντα για τις προσπάθειες που κατέβαλαν για την όσο το δυνατόν αρτιότερη εμφάνιση αυτής της εργασίας.

Ιωάννινα 1998



Α. ΕΠΙΣΤΡΟΦΗ

Ο παρών νόμος εκδίδεται με σκοπό να οριστεί η διαδικασία της επιστροφής των οφειλών των φορολογουμένων, καθώς και η διαδικασία της εκτέλεσης των αποφάσεων των οργάνων της φορολογικής διοίκησης, σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 107 του Συντάγματος, όπως ισχύει.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Αρθρο 1. Ο παρών νόμος εφαρμόζεται στις αποφάσεις των οργάνων της φορολογικής διοίκησης, οι οποίες εκδίδονται σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 107 του Συντάγματος, όπως ισχύει.

Αρθρο 2. Η διαδικασία της επιστροφής των οφειλών των φορολογουμένων, καθώς και η διαδικασία της εκτέλεσης των αποφάσεων των οργάνων της φορολογικής διοίκησης, σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 107 του Συντάγματος, όπως ισχύει, καθορίζονται με τον παρόντα νόμο.

Αρθρο 3. Η διαδικασία της επιστροφής των οφειλών των φορολογουμένων, καθώς και η διαδικασία της εκτέλεσης των αποφάσεων των οργάνων της φορολογικής διοίκησης, σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 107 του Συντάγματος, όπως ισχύει, καθορίζονται με τον παρόντα νόμο.

Αρθρο 4. Η διαδικασία της επιστροφής των οφειλών των φορολογουμένων, καθώς και η διαδικασία της εκτέλεσης των αποφάσεων των οργάνων της φορολογικής διοίκησης, σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 107 του Συντάγματος, όπως ισχύει, καθορίζονται με τον παρόντα νόμο.



A. ΙΣΤΟΡΙΑ

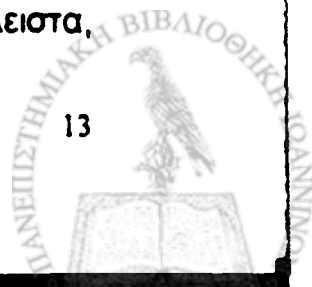
Chlamydia trachomatis είχε ονομασθεί αρχικά το αίτιο του L.G.V.-TR.IC (*Lymphogranulana Venereum - Trachoma - Inclusion Conjunctivitis*) δηλ. αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα - τράχωμα - επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα. Με την πρόοδο της εργαστηριακής διαγνωστικής και με την αύξηση της συχνότητας εμφάνισης των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων, η *C. trachomatis* έχει αναγνωρισθεί ως η κυριότερη αιτία στις μη γονοκοκκικές ουρηθρήτιδες και επιδιδυμίτιδες στους άνδρες, στις τραχηλίτιδες και οξείες σαλπινγίτιδες στις γυναίκες, στην επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα και σε τυπικές μορφές πνευμονίτιδας στα παιδιά.

Το Τράχωμα, ως οφθαλμική νόσος ήταν γνωστό από την αρχαιότητα, περιγράφεται δε καλά στον πάπυρο Ebers, που γράφτηκε στην Αίγυπτο πριν από 3.800 χρόνια. Επίσης, το τράχωμα ήταν η κυριότερη αιτία τύφλωσης στους αρχαίους Κινέζους (Duke-Elber, 1965).

Ο Ιπποκράτης είχε παρατηρήσει και περιγράψει το τράχωμα σαν μία χρόνια ουλώδης οφθαλμική νόσο για την οποία πρότεινε χειρουργική επέμβαση με καυτηρίαση και θεραπεία με θειικό χαλκό (Απαντα, Γ. Πουρναρόπουλου).

Το 1907 οι Halberstaedter και Prowazek για πρώτη φορά παρατήρησαν σε επιθηλιακά κύτταρα του επιπεφυκότα ενδοκυττοπλασματικά έγκλειστα από *C. trachomatis*.

Το 1910 ο Linder και συν. αναγνώρισε επιθηλιακά κύτταρα με έγκλειστα από τραχηλίτιδα σε μητέρα και από τυπική επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα στο παιδί της. Επίσης καταγράφηκε μία γυναίκα με έγκλειστα,



σε επιθηλιακά κύτταρα από τράχηλο και ίδια παρατηρήθηκαν στο σύντροφό της που έπασχε από μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα.

Το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα ανακαλύφθηκε το 1912. Το όνομα του γένους *Bedsonia* είχε χρησιμοποιηθεί με την πρωτοπόρα δουλειά του Sir Samuel Bedson και της ομάδας του, ο οποίος απομόνωσε και περιέγραψε το αίτιο της ψιπτάκωσης, νωρίς το 1930.

Ο Bedson και η ομάδα του βρήκαν ότι ο μικροοργανισμός της ψιπτάκωσης πολλαπλασιάζεται με διχοτόμηση όπως ακριβώς τα βακτήρια.

Η *C. trachomatis* απομονώθηκε αρχικά σε λεκιθικό σάκκο εμβρυοφόρων αυγών. Συγκεκριμένα, το 1938 η *C. trachomatis* απομονώθηκε από Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα (L.G.V.), το 1957 από οφθαλμό με ενδημικό τράχωμα (Tanq και συν), το 1959 από τράχηλο και τέλος το 1964 σε δείγμα από ανδρική ουρήθρα .

Με την πάροδο των χρόνων αναγνωρίστηκε η μεγάλη συχνότητα των χλαμυδιακών λοιμώξεων που μεταδίδονται με σεξουαλική επαφή. Σημαντικοί σταθμοί στην μελέτη των χλαμυδίων αποτελούν οι εργασίες των Gordon και Quan που το 1965 εισήγαγαν για πρώτη φορά την τεχνική της απομόνωσης του *C. trachomatis* από καλλιέργειες κυττάρων και των Wang και Grayston το 1970 που εισήγαγαν τη μέθοδο του μικροανοσοφθορισμού για την έρευνα των αντισωμάτων και για την ανοσοαποτύπωση.



Β. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Το *G. trachomatis*, όπως όλα τα είδη του γένους των χλαμυδίων, είναι ένας Gram αρνητικός ενδοκυττάριος προκαρυωτικός μικροοργανισμός, που συγγενεύει στενά με τα gram-αρνητικά βακτήρια.

1. Ταξινόμηση

Το γένος *Chlamydiae* περιλαμβάνει μικροοργανισμούς στους οποίους κατά καιρούς έχουν δοθεί διάφορα ονόματα, όπως P.L.T. (*Psittacosis - Lymphogranuloma venereum - Trachoma*), *Chlamydozoa*, TR.I.C (*Trachoma - Inclusion Conjunctivitis*), *Bedsonia*, *Miyahawanelles*, Νεορικέςσιες. Για πολλές δεκαετίες υπήρξε μία σύγχυση στην ονοματολογία και την ταξινόμηση των χλαμυδίων.

Εως τις αρχές της δεκαετίας του εξήντα μάλιστα, επικρατούσε η άποψη ότι τα χλαμύδια είναι ιοί, διότι ήταν διηθητά και υποχρεωτικά ενδοκυττάρια παράσιτα και είχαν το όνομα *Virus Trachoma*, δηλ. ιοί του τραχώματος.

Από το 1966 έχει γίνει πλέον ξεκάθαρο από τον Moulder, ότι τα *Chlamydiae* είναι μικροί προκαρυωτικοί οργανισμοί και έχουν αναπτύξει υψηλή παράσιτική σχέση στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων.

Τα χλαμύδια μπορούν να θεωρηθούν ως gram-αρνητικά βακτήρια, που στερούνται ορισμένων σημαντικών μηχανισμών για την παραγωγή μεταβολικής ενέργειας. Αυτό το ελάττωμα τα περιορίζει σε ενδοκυττάρια ζωή, όπου το κύτταρο-ξενιστής παρέχει πλούσια σε ενέργεια ενδιάμεσα.

Ετσι, σήμερα πλέον τα *Chlamydiae* ανήκουν σε δική τους τάξη, την *Chlamydiales*, οικογένεια *Chlamydiaceae* με ένα και μοναδικό γένος



Chlamydia (Moulder και συν. 1984). Υπάρχουν τρία είδη: το *C. trachomatis*, το *C. psittaci*, και το *C. pneumoniae*.

Μολονότι τα τρία είδη έχουν παρόμοια μορφολογία, τρόπο αναπαραγωγής και ένα κοινό αντιγόνο που συνδέει το συμπλήρωμα, μόνο 10% είναι ομόλογα όσο αναφορά στην ακολουθία του DNA τους. Επίσης εμφανίζουν και άλλες διαφορές που αναγράφονται στον Πίνακα I.

2. Μορφολογία και φύση του *C. trachomatis* - Σχέση με άλλους μικροοργανισμούς.

Τα χλαμύδια, που αρχικά θεωρήθηκαν ιοί, επειδή αναπτύσσονται ενδοκυττάρια και έχουν μικρό μέγεθος είναι καλά διευκρινισμένο σήμερα ότι ανήκουν στους σχιζομύκητες. Οι ιδιότητες των χλαμυδίων αναγράφονται στον Πίνακα I, όπου και διακρίνουμε και τις βασικές διαφορές μεταξύ των τριών ειδών των χλαμυδίων. Στον Πίνακα II αναγράφονται οι διαφορές μεταξύ των χλαμυδίων, των βακτηρίων, των μυκοπλασμάτων και των ιών.

Ο μικροοργανισμός μπορεί να διακριθεί με δύο διαφορετικούς τύπους - μορφές. Το στοιχειώδες σωματίο (elementary body) και το δικτυωτό ή αρχικό σωματίο (reticulate ή initial body).

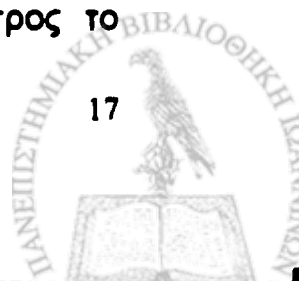
Το στοιχειώδες σωματίο (EB), έχει διάμετρο 0,3 μm. Αποτελεί την μολυσματική μορφή του μικροοργανισμού. Είναι προσαρμοσμένο στην εξωκυττάρια επιβίωση. Με την χρώση Giemsa βάφεται πορφυρό. Το κυτταρικό του τοίχωμα είναι στερεό και αποτελείται από τρεις στοιβάδες ανάλογες με των Gram αρνητικών βακτηρίων.



Πίνακας Ι. Χαρακτηριστικές ιδιότητες των 3 ειδών χλαμυδίων

Χαρακτηριστικά	Είδη		
	<i>C. trachomatis</i>	<i>C. psittaci</i>	<i>C. pneumoniae</i>
Φυσικοί ξενιστές	άνθρωπος	πτηνά, κατώτερα θηλαστικά	Άνθρωπος
DNA ομολογία %	100	10	10
% G+C του DNA	41/42	41	40
Πλασμίδια	ναι	ναι	Όχι
Αριθμός οροτύπων	12/3	άγνωστος	Ένας
Μορφολογία στοιχειώδους σωματίου	στρογγυλό	στρογγυλό	σαν αχλάδι
Μορφολογία εγκλειστού	ωοειδές, με κενοτόπιο	ποικίλο σχήμα	Ωοειδές, πυκνό
Γλυκογόνο στο έγκλειστο	ναι	όχι	Όχι
Θυλακιώδης επιπεφυκίτις στον πίθηκο	ναι/όχι	όχι	Όχι

Το δικτυωτό σωματίο (RB ή IB), έχει διάμετρο 600-1000 nm και είναι ελάχιστα μολυσματικό. Επιβιώνει με παρασιτισμό στο κυτταρόπλασμα των ευκαρυωτικών κυττάρων. Με χρώση Giemsa βάφεται υποκυανό. Ομάδες αυτών των σωματίων σχηματίζουν τα έγκλειστα. Το κυτταρικό τοίχωμα του RB ή IB είναι πιο λεπτό και εύθραυστο από αυτό του EB. Η πιο χαλαρή σχέση προς την μεμβράνη του κυττάρου πρέπει να επισημανθεί, γιατί επιτρέπει την διάχυση υλικών από και προς το



αναπτυσσόμενο έγκλειστο. Το υλικό του πυρήνα είναι λιγότερο πυκνό από αυτό του ΕΒ.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙ. Ιδιότητες των χλαμυδίων, βακτηρίων, μυκοπλάσμάτων και των ιών

	Χλαμύδια	Βακτήρια	Μυκο- πλά- σματα	Ιοί
Μέγεθος 500 nm	+	-	+	+
Κυτταρικό τοίχωμα	+	+	-	-
DNA και RNA	+	+	+	-
Χρωματίνη χωρίς περιοριστική μεμβράνη	+	+	+	-
Μεταβολισμός υδατανθράκων	+	+	+	-
Ριβοσωμάτια προκαρυωτικού κυττάρου	+	+	+	-
Έλλειψη κατά την λοίμωξη	-	-	-	+
Συσσωμάτωση με το πυρηνικό οξύ του ξενιστού	-	-	-	+
Διαίρεση με διχοτόμηση	+	+	+	-
Ευαισθησία στα αντιβιοτικά	+	+	+	-
Αναπτυξη σε θρεπτικά υλικά	-	+	+	-



Η αναλογία γουανίνης-κυτοσίνης (G-C) είναι περίπου 41-42% και το μέγεθος του γεννητικού υλικού είναι $9,8 \times 10^8$ dalton. Περιέχει RNA και DNA ως νούκλειικά οξέα. Το κυτταρικό τους τοίχωμα περιέχει D-αλανίνη και N-ακέτυλο-μουραμικό οξύ.

Περιέχει 70S ριβωσωμάτια ορατά μέσα από υπομονάδες 30S και 50S. Έχουν περιγραφεί 18 αμινοξέα του στοιχειώδους σωματίου. Η δράση της κυκλοεξαμίδης μας δίνει μια σημαντική διαφορά ανάμεσα στα χλαμύδια και στους ιούς (Oriel and Ridgway, 1983). Συγκεκριμένα η κυκλοεξαμίδη αναστέλλει την σύνθεση των ριβοσωματίων των ευκαρυωτικών κυττάρων, όχι όμως των προκαρυωτικών κυττάρων. Τα χλαμύδια δεν επηρεάζονται από την δράση της ουσίας αυτής σε αντίθεση με τους ιούς. Δείχνοντας έτσι ότι, δεν χρησιμοποιούν την συσκευή μετάφρασης του κυττάρου ξενιστή για να συνθέσουν την δική τους πρωτεΐνη. Η περιεκτικότητα σε ένζυμα είναι μικρή με ελάχιστη ενζυματική δράση η οποία μάλιστα, δεν έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ενέργειας.

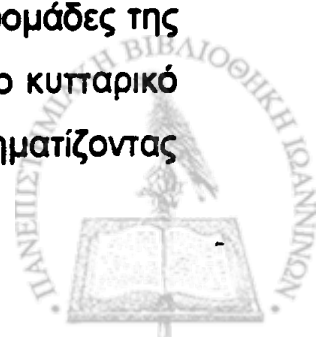
Τα χλαμύδια είναι ενεργά παράσιτα και χρησιμοποιούν την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) και τριφωσφορική γουανοσίνη (GTP) των κυττάρων που τα φιλοξενούν. Οι ουσίες αυτές είναι απαραίτητες για τον μεταβολισμό και την αναπνοή. Αν και οι δύο τύποι σωματίων περιέχουν ρεντουκτάση του κυττοχρώματος C, απουσιάζουν τα συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Η σύνθεση των μακρομορίων του κυττάρου ξενιστή ελαττώνεται κάπως από τα χλαμύδια και ουσίες υψηλής ενέργειας των κυττάρων αυτών χρησιμοποιούνται για την σύνθεση των χλαμυδιακών πρωτεΐνων και λιπιδίων. Το κύτταρο ξενιστής προμηθεύει μεταβολίτες, μερικοί από τους οποίους (π.χ. ισολευκίνη) πιθανόν να αναστέλλουν την ανάπτυξη των χλαμυδίων και πιθανόν να

περιλαμβάνονται στους παράγοντες που ευνοούν την λανθάνουσα λοίμωξη (Hatch, 1975).

3. Κύκλος ανάπτυξης του *C. trachomatis*

Αντίθετα από όλα τα άλλα βακτήρια, τα χλαμύδια ακολουθούν ένα ασυνήθιστο κύκλο ανάπτυξης. Η ώριμη και μολυσματική μορφή του μικροοργανισμού το στοιχειώδες σωματίο (Elementary bodies-E.B) στο πρώτο στάδιο, προσηλώνεται στην επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή. Περνά στο εσωτερικό του κυττάρου με φαγοκύττωση. Η διαδικασία της προσκόλλησης και της διείσδυσης πρέπει να ελέγχεται από ειδικούς μηχανισμούς αν και δεν έχουν διαπιστωθεί μέχρι σήμερα ειδική ουσία προσκόλλησης ή υποδοχείς στο κύτταρο ξενιστή.

Οι Byrge και Moulder σε εργασίες τους το 1978 υποστηρίζουν ότι θα πρέπει να υπάρχει ειδική ουσία προσκόλλησης, που είναι μία πρωτεΐνη. Άλλοι ερευνητές προσπάθησαν να προσδιορίσουν την φύση του υποδοχέος των χλαμυδίων αλλά ακόμη δεν έχει αποδειχθεί εάν υπάρχει Ν-ακετυλογλυκοζαμίνη (Levy, 1979). Η προσκόλληση των χλαμυδίων φαίνεται να επηρεάζεται και από μη ειδικούς παράγοντες. Το στοιχειώδες σωματίο μετά την είσοδό του σχηματίζει ένα κενοτόπιο από τις μεμβράνες του ξενιστή που ονομάζεται φαγόσωμα (Phagosome). Οι οργανισμοί είναι ικανοί να αποτρέπουν την λυσοσωμική τους σύντηξη που θα συνέβαινε σε κανονική φαγοκυττάρωση. Μετά το αρχικό στάδιο τα στοιχειώδη σωματία αναδιοργανώνονται (μετατρέπονται) σε πιο ενεργά μεταβολικές μορφές, τα δικτυωτά σωματία. Αυτή η διαδικασία διαρκεί 7-10 ώρες και το φαγόσωμα απωθεί προς την περιφέρεια τον πυρήνα του κυττάρου ξενιστή. Το RB ωριμάζει καθώς οι υποομάδες της πεπτιδογλυκάνης χάνουν την στερεά συνοχή που έχουν στο κυτταρικό τοίχωμα του EB. Το RB διαιρείται με διχοτόμηση σχηματίζοντας



καινούργια δικτυωτά σωμάτια. Ο χρόνος γενεάς είναι 2-3 ώρες. Ο τρόπος διχοτόμησης ακόμη δεν έχει διευκρινισθεί. Καθώς αυξάνει ο αριθμός των δικτυωτών σωματίων το έγκλειστο μεγαλώνει και λαμβάνει το σχήμα ενός χαρακτηριστικού ημισεληνοειδούς περιβλήματος γύρω από τον πυρήνα του κυττάρου ξενιστή. Στο στάδιο αυτό το *C. trachomatis* βρίσκεται πάνω σε μία μήτρα γλυκογόνου, υπεύθυνη για την καφεοειδή χρώση των εγκλείστων με ιώδιο.

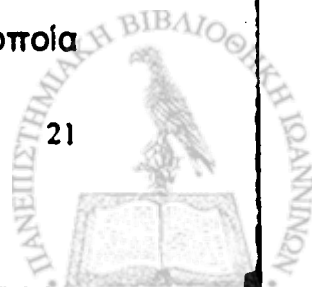
4. Αντιγονική σύσταση

Τα αντιγόνα που φέρει το *C. trachomatis* στην επιφάνειά του διαιρούνται σε αντιγόνα ειδικά του γένους (ομάδας), του είδους και υποείδους, και αντιγόνα ειδικά του τύπου. Μόνο λίγα αντιγόνα παίζουν ρόλο στην διάγνωση.

Τα ειδικά αντιγόνα του γένους (Genus- or Group-Specific Antigens) υπάρχουν σ' όλα τα μέλη του γένους. Βρίσκονται και στα EBs και στα RBs. Είναι ένας λιποπολυσακχαρίτης (LPS) με ένα κετοδεοξυοκτανικό οξύ ανάλογο με τον LPS πολλών gram-αρνητικών βακτηρίων. Περιγράφηκε από τον Benson το 1937, είναι θερμοανθεκτικό (στους 100°C για 30'), συνδέει το συμπλήρωμα και διαλύεται στον αιθέρα. (Nurminen M et al 1983).

Διάσταυρούμενες αντιδράσεις έχουν αναφερθεί μεταξύ χλαμυδίων και μερικών βακτηριδίων, αλλά δεν φαίνεται ότι επηρεάζουν την ορολογική διάγνωση.

Η "μείζων πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης" (major outer membrane protein, MOMP) περιλαμβάνεται στα ειδικά αντιγόνα είδους και υποείδους. Είναι ένα αντιγόνο που διαφοροποιεί τα τρία είδη των χλαμυδίων. Είναι μία θερμοευαίσθητη πρωτεΐνη με MB 155000 η οποία



καταλαμβάνει το 60% της εξωτερικής μεμβράνης και βρέθηκε από τους Caldwell και συνεργάτες το 1977. Το 1981 ταυτοποιήθηκε από τους Caldwell, Kromhout και Schacter (Caldwell H.D., and J. Schachter 1981).

15 ορότυποι *C. trachomatis* είναι καλύτερα αναγνωρισμένοι με την τεχνική του μικροανοσοφθορισμού (micro-IF). Όπως έχουν διαπιστωθεί από τους Wang και Grayston έως το 1970.

Η MOMP είναι υπεύθυνη για τις πιο πολλές ορατές αντιδράσεις στην micro-IF test.

Ο Jones και συν. το 1982 έδειξαν ότι υπάρχει μία δομική πρωτεΐνη 60 kilodalton πλούσια σε κυστεΐνη, είναι αντιγονικά πολύπλοκη και φέρει επιτόπους καθοριστικούς του είδους .

Επίσης οι Morrison, Lying και Caldwell το 1989 απέδειξαν ότι υπάρχει μία πρωτεΐνη 57 kilodalton ειδική του γένους και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσοπαθολογία.

Μία πολυπεπτιδική 118.000 dalton πρέπει να συνδέεται με τους οροτύπους του LGV (Salarì και Ward, 1981).

Η *C. psittaci* έχει ορότυπους που αποδεικνύονται με τεστ οροεξουδετέρωσης και με micro-IF. Για την *C. pneumoniae* μόνο ένας ορότυπος έχει αποδειχθεί.

Η *C. trachomatis* είναι αποκλειστικά σχεδόν μία ανθρώπινη παθολογική νόσος και στην οποία ανήκουν τρεις (3) ομάδες οροτύπων.

Στην πρώτη ομάδα οροτύπων υπάγονται οι τύποι A, B, Ba και C και είναι υπεύθυνοι για το τράχωμα. Στην δεύτερη ομάδα υπάγονται οι τύποι D-K και είναι υπεύθυνοι για επιπεφυκίτιδες νεογνών και ενηλίκων, τραχηλίτιδες, σαλπινγίτιδες, μη γονοκοκκικές ουρηθρήτιδες, επιδιδυμίτιδες και πνευμονία νεογνών.

Τέλος, στην τρίτη ομάδα ανήκουν οι ορότυποι L1, L2, L3 που είναι υπεύθυνοι για το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα (LGV).



Γ. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

1. Λοιμώξεις του Οφθαλμού

Η παθογόνος δράση του *C. trachomatis* στον οφθαλμό του ανθρώπου δεν αμφισβητείται. Έχει διαπιστωθεί από πολλά χρόνια, ότι απομονώσεις του μικροοργανισμού από ασθενείς με τράχωμα, μπορούν να προκαλέσουν νόσο στον άνθρωπο (Collier et al., 1958). Παρομοίως, ο πειραματικός εμβολιασμός χλαμυδίων, από νεογνική επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα, σε οφθαλμό ενήλικα εθελοντή, προκάλεσε οξεία χλαμυδιακή νόσο (Jones, 1964). Επομένως πληρούνται τα αξιώματα του Koch για τα οφθαλμικά και γεννητικά στελέχη του *C. trachomatis*.

Οι γεννητικοί ορότυποι του *C. trachomatis* είναι πιθανόν να προκαλέσουν νόσο του οφθαλμού που δεν μπορεί να διακριθεί από το τράχωμα (Jones, 1964) και αντίστροφα, οφθαλμικοί ορότυποι να προκαλέσουν μάλλον επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα ή διάχυτο κερατίτιδα παρά πάννο ή ουλές στον επιπεφυκότα (Grayston και Wang, 1975). Σήμερα είναι αποδεκτό, ότι υπάρχει ένα συνεχές φάσμα χλαμυδιακής λοίμωξης του οφθαλμού. Επίσης είναι υπεραπλούστευση να γίνεται συσχέτιση ειδικών οφθαλμικών συνδρόμων με ορισμένους ορότυπους. Εντούτοις, επιδημιολογικώς, το ενδημικό τράχωμα και το παρατράχωμα παρατηρούνται σε διαφορετικές ομάδες. Οι κλινικές επιπλοκές της χλαμυδιακής λοίμωξης του οφθαλμού θα πρέπει σε κάποιο βαθμό να εξαρτώνται από την σοβαρότητα των δευτερογενών λοιμώξεων και από τα αποτελέσματα της επαναμόλυνσης με το *C. trachomatis*. Στις περιοχές που ενδημεί το τράχωμα οι δευτερογενείς λοιμώξεις επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την παθογένεση της οφθαλμικής νόσου,

προκαλώντας έντονη φλεγμονή του επιπεφυκότα και του κερατοειδούς με επακόλουθα τον σχηματισμό ουλών και πάννο.

Μια συνυπάρχουσα λοίμωξη του οφθαλμού με γονόκοκκο ή άλλους μικροοργανισμούς, είναι πιθανή σε νεογνά των οποίων οι οφθαλμοί έχουν μολυνθεί με το *C. trachomatis*.

Η παθογένεια του *C. trachomatis* στον οφθαλμό θα πρέπει να επηρεάζεται από ανοσολογικούς παράγοντες. Οι Grayston και Wang (1975) συμφωνούν ότι το χρόνια τράχωμα με τα χαρακτηριστικά σημεία του πάννου και των ουλών του επιπεφυκότα, συμβαίνει μετά από επαναμόλυνση ή υποτροπή και εξαρτάται από τις ανοσολογικές αντιδράσεις προς τον μικροοργανισμό.

Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι χλαμυδιακής νόσου του οφθαλμού, το τράχωμα και το παρατράχωμα. Τα περισσότερα κρούσματα τραχώματος εμφανίζονται στην Β. Αφρική, τη Μέση και Άπω Ανατολή. Είναι μία χρόνια φλεγμονώδης νόσος του οφθαλμού, που μπορεί να οδηγήσει σε βλάβες του επιπεφυκότα και του κερατοειδούς και αποτελεί το κυριότερο αίτιο τύφλωσης στον κόσμο. Το παρατράχωμα συμπεριλαμβάνει την επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα, την διάχυτο διάστικτο κερατίτιδα και το ενδημικό τράχωμα. Είναι σύνηθες στις Δυτικές αστικές κοινότητες και συνδέεται αιτιολογικά με λοίμωξη του γεννητικού συστήματος. Η μόλυνση γίνεται με άμεσο ή έμμεσο επαφή με γεννητικό υλικό. Η επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα στα νεογνά, οφείλεται σε λοίμωξη με στελέχη *C. trachomatis* που βρίσκονται στο γεννητικό σύστημα της επιτόκου και μολύνουν τα νεογνά κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού τοκετού.

Τράχωμα

Στις υπερενδημικές περιοχές το τράχωμα προκαλείται από τους ορότυπους A, B, Βα και C του *C. trachomatis*. Η μεταφορά από οφθαλμό



σε οφθαλμό συχνά γίνεται με έντομα όπως οι μύγες και η μορφή της νόσου είναι ιδιαίτερα βαριά στις πτωχές χώρες. Η μόλυνση γίνεται στην παιδική ηλικία και οι νεαροί έφηβοι είναι δεξαμενή χλαμυδιακής λοίμωξης στις ενδημικές περιοχές.

Η νόσος κλινικά εξελίσσεται σε τέσσερα στάδια. Στο 1ο στάδιο εμφανίζονται λεμφοειδείς θύλακοι. Αν και αυτοί εμφανίζονται αρχικά στον ανώτερο και κατώτερο ταρσικό επιπεφυκότα, αργότερα οι βλάβες προεξάρχουν στην εσωτερική επιφάνεια του κάτω βλεφάρου. Θηλοειδής υπερπλασία αναπτύσσεται στο επιθήλιο του κερατοειδούς και διάστικτος κερατίτιδα με διάχυτο διήθηση και σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων επισυμβαίνει στον κερατοειδή χιτώνα (πάννος). Η νόσος εξελίσσεται σε χρόνια. Στο 2ο στάδιο, τα θυλάκια είναι ορατά, η διήθηση του κερατοειδούς και ο πάννος αυξάνουν. Η εμφάνιση μικρών αστεροειδών ουλών στον επιπεφυκότα δείχνει την εμφάνιση του τραχώματος. Στο 3ο στάδιο συμβαίνει επούλωση σε ποικίλη έκταση και εάν υπάρχουν σοβαρές βλάβες στο άνω βλέφαρο, πιθανόν να οδηγήσουν σε εντρόπιο και εξέλκωση του κερατοειδούς. Μετά από μερικά χρόνια, η φλεγμονώδης διεργασία σταματά και απομένει μόνιμη βλάβη στην περιοχή. Στο 4ο στάδιο τέλος η διάχυση των θυλάκων καταλείπει μικρές ακραίες καταπτώσεις (Herbert' pits). Η πορεία του τραχώματος επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την παρουσία και άλλων μικροβιακών λοιμώξεων και από τις επαναμολύνσεις. Μικρόβια όπως *Haemophilus aegyptius*, *Moraxella lacunata*, γονόκοκκος και σταφυλόκοκκος διευκολύνουν την έναρξη του τραχώματος, συντομεύουν την εξέλιξη των σταδίων και καθυστερούν ή εμποδίζουν την επούλωση στις βλάβες των ιστών.

Επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα και σχετιζόμενα νοσήματα

Η επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα και τα παρόμοια σύνδρομα, συνήθως οφείλονται σε λοίμωξη από στελέχη του *C. trachomatis* του γεννητικού συστήματος. Οι συνήθεις ορότυποι είναι οι ορότυποι από D έως K. Σπανιότερα και ορότυποι όπως οι B, Βα και C που θεωρούνται αίτια του τραχώματος προκαλούν επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα. Η μόλυνση του οφθαλμού γίνεται είτε με άμεσο επαφή με γεννητικό υλικό κατά τη διάρκεια στοματογεννητικής συνουσίας ή με τη μεταφορά παρόμοιου υλικού μέσω των χεριών ή με άλλο τρόπο. Οι Darougar και συνεργάτες (1972) απομόνωσαν *C. trachomatis* από τον τράχηλο γυναικών και την ουρήθρα ανδρών με παρατράχωμα, σε αναλογία 90% και 50% αντίστοιχα.

Η επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα ονομάσθηκε παλαιότερα "επιπεφυκίτιδα των κολυμβητηρίων" (Fehr, 1900), αλλά δεν είναι βέβαιο ότι στις περιπτώσεις αυτές πάντοτε το αίτιο είναι το *C. trachomatis*, αφού και οι αδENOΪΟΪ απεδείχθει ότι συμμετέχουν στην αιτιολογία αυτής της επιπεφυκίτιδας.

Ο χρόνος επώασης της νόσου είναι 1-2 εβδομάδες. Στις περισσότερες περιπτώσεις προσβάλλεται ο ένας οφθαλμός. Ο ασθενής αρχικά έχει την αίσθηση ξένου σώματος, δακρύρροια, βλενώδες ή βλενοπυώδες έκκριμα και ερυθρότητα του επιπεφυκότα. Μετά από δύο εβδομάδες, η ποσότητα του εκκρίματος αυξάνει, η υπεραιμία είναι εντονότερη και εμφανίζονται πολλαπλοί θηλοειδείς θύλακοι, κυρίως στο κάτω βλέφαρο. Στο στάδιο αυτό μπορεί να έχουμε διόγκωση των πρωταίων λεμφαδένων ή σημεία λοίμωξης του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Η συμμετοχή του κερατοειδούς είναι συνήθης στην επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα, ενώ πολλοί ασθενείς



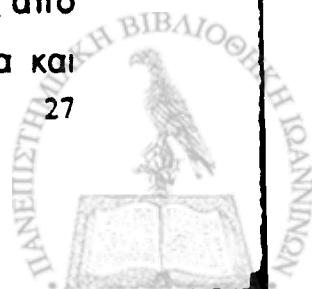
παρουσιάζουν διάστικτο κερατίτιδα και η διήθηση του επιπολής επιθηλίου μπορεί να διαρκέσει αρκετούς μήνες.

Οι οφθαλμογεννητικές χλαμυδιακές λοιμώξεις αν και παρουσιάζουν διακυμάνσεις τελικώς αυτοπεριορίζονται. Εντούτοις, ένας επιπεφυκότας με υπολειμματικές ουλές μπορεί να εξελιχθεί περαιτέρω ώστε η κλινική εικόνα να μην διαφέρει από αυτή του τραχώματος.

- Η επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα των νεογνών μοιάζει με τη νόσο των ενηλίκων και οφείλεται στους ίδιους ορότυπους του *C. trachomatis*. Μερικά νεογνά είναι ασυμπτωματικά αν και στις καλλιέργειές τους απομονώνονται χλαμύδια, συνήθως όμως υπάρχουν κλινικά συμπτώματα. Η νόσος ποικίλλει ευρέως σε βαρύτητα. Σε μερικά νεογνά εμφανίζεται μόνο μία ήπια επιπεφυκίτιδα - ένας οφθαλμός που κολλάει (sticky eye) - ενώ σε άλλα, μία σοβαρή πυώδης οφθαλμία. Τα κλινικά σημεία της επιπεφυκίτιδας των νεογνών περιλαμβάνουν ερυθρότητα του επιπεφυκότα, ορρώδες έκκριμα που μπορεί να γίνει πυώδες και οίδημα των βλεφάρων. Σε μερικές περιπτώσεις εμφανίζονται ψευδομεμβράνες που οφείλονται στο πυώδες έκκριμα, που κολλάει στον επιπεφυκότα. Λεμφοειδείς θύλακοι εμφανίζονται αργότερα, περίπου στην ηλικία των 3 εβδομάδων (Freedman et al., 1966).

Αρχικά επιστεύετο ότι η επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα των νεογνών είναι μία ήπια νόσος που ιάται σε μερικές εβδομάδες ή μήνες. Υπάρχουν όμως εξαιρέσεις που η νόσος έχει επακόλουθα, όπως ουλές στον επιπεφυκότα, επιφανειακή αγγείωση στον κερατοειδή και πάννο. Αυτές οι βλάβες μπορεί να επιμένουν για αρκετό χρονικό διάστημα, ακόμη και χρόνια, έτσι ώστε να επακολουθήσει νόσος παρόμοια με το τράχωμα (Watson και Gairdner, 1968).

Όπως συμβαίνει στο τράχωμα, οι δευτερογενείς λοιμώξεις με άλλους μικροοργανισμούς επηρεάζουν την κλινική πορεία της νόσου. Εκτός από τον χρυσίζοντα σταφυλόκοκκο, την κλεμψιέλλα, την ψευδομονάδα και



άλλα Gram αρνητικά νοσοκομειακά μικρόβια και μικρόβια του ρινοφάρυγγα, όπως είδη αιμοφίλων και στρεπτοκόκκων, μπορεί να ανευρεθούν. Όμως η παθογόνος δράση αυτών είναι δύσκολο να εκτιμηθεί, επειδή αυτά μπορούν να ανευρεθούν και σε φυσιολογικούς οφθαλμούς.

Είναι γνωστό εξάλλου ότι το *C. trachomatis* και η *N. gonorrhoeae* μπορεί να συνυπάρχουν σε ορισμένες περιπτώσεις οφθαλμίας των νεογνών.

2. Λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος των ανδρών

Ουρηθρίτιδα

Το *C. trachomatis* είναι ένα συχνό αίτιο P.G.U. Δεν είναι ίσως το μοναδικό, είναι όμως το συχνότερο.

Όσον αφορά την N.G.U., αν και υπάρχουν ορισμένες ασυμφωνίες (Richmond et al., 1972, Richmond και Sparling, 1976) δεν υπάρχει αμφιβολία ότι όταν το *C. trachomatis* μολύνει για πρώτη φορά την ουρήθρα, προκαλεί ουρηθρίτιδα. Οι Richmond και συνεργάτες (1976) υπαινίσσονται ότι οι χλαμυδιακές λοιμώξεις είναι δυνατόν να επιμένουν σε μια λανθάνουσα μορφή και να επανεργοποιηθούν από ορισμένα ερεθίσματα όπως μία λοίμωξη με γονόκοκκο ή άλλο άγνωστο αίτιο.

Εκείνο που είναι γεγονός είναι ότι οι χλαμυδιακές λοιμώξεις μπορεί να είναι σοβαρές ή ήπιες και η ανταπόκριση του ασθενούς να είναι τέτοια, ώστε να έχει σαν αποτέλεσμα ασυμπτωματική ή υποκλινική νόσο.

Άνδρες με N.G.U. εμπίπτουν σε μία από τις τρεις κατηγορίες:

1) Άνδρες που παρουσιάζουν για πρώτη φορά χλαμυδιακή ουρηθρίτιδα, με κλινικά εμφανή ή υποκλινική μορφή με ή χωρίς άλλους μικροοργανισμούς,



2) Άνδρες με παλαιό ιστορικό ουρηθρίτιδας, που έχουν χλαμυδιακή ουρηθρίτιδα με ή χωρίς άλλους μικροοργανισμούς και

3) Άνδρες με N.G.U. που οφείλεται σε άλλα αίτια.

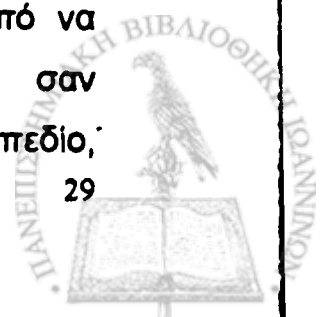
Στην κλινική πράξη η N.G.U. είναι μία νόσος κάπως σύνθετη. Αν και το *C. trachomatis* δεν είναι το μόνο αίτιο αυτής και οι μικτές λοιμώξεις είναι συχνές, αυτό δεν σημαίνει ότι το *C. trachomatis* δεν είναι παθογόνο για την ανδρική ουρήθρα. Όλες οι υπάρχουσες ενδείξεις συνηγορούν ότι το *C. trachomatis* είναι παθογόνο για την ανδρική ουρήθρα.

Η συνηθέστερη χλαμυδιακή λοίμωξη του γεννητικού συστήματος των ανδρών είναι η μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα (N.G.U.).

Άλλες λοιμώξεις που σχετίζονται με το *C. trachomatis* είναι η μεταγονοκοκκική ουρηθρίτιδα (P.G.U.), η επιδιδυμίτιδα σε νέους άνδρες και η χλαμυδιακή πρωκτίτιδα σε ομοφυλόφιλους άνδρες. Υπάρχουν λίγες ενδείξεις ότι τα χλαμύδια είναι ένα από τα αίτια χρόνιας προστατίτιδας.

Μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα (N.G.U.)

Η τυπική κλινική εικόνα που παρουσιάζει ένας άνδρας με μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα είναι ερεθισμός της ουρήθρας, δυσουρία και βλεννοπυώδης έκκριση. Τα συμπτώματα αρχίζουν 1-2 εβδομάδες μετά τη σεξουαλική επαφή. Μολονότι ο χρόνος μπορεί να ποικίλλει, η βλεννόρροια έχει μικρότερο χρόνο επώασης. Η διάγνωση γίνεται έμμεσα με ανεύρεση σημαντικού αριθμού πυοσφαιρίων στο έκκριμα της ουρήθρας ή στο πρώτο πρωινό δείγμα ούρων, αφού αποκλεισθεί ο γονόκοκκος με μικροσκόπηση ή καλλιέργεια. Όταν ο ασθενής έχει έκδηλα συμπτώματα και ευρήματα, η διάγνωση είναι εύκολη, αλλά σε ασθενείς με ήπια συμπτώματα υπάρχουν δυσκολίες. Με σκοπό να αποφευχθούν λάθη στη διάγνωση, έχει γίνει αποδεκτό σαν παθολογικό στοιχείο η ύπαρξη 4-5 πυοσφαιρίων κατά οπτικό πεδίο,



όταν εξετάζεται επίχρισμα ουρήθρας σε μεγάλη μεγέθυνση (Swartz et al., 1978). Ο αριθμός >20 πυοσφαιρίων κατά οπτικό πεδίο που ήταν αποδεκτός παλαιότερα θεωρείται σήμερα πολύ αυστηρός. Επίσης όταν εξετάζεται το ίζημα του πρώτου πρωινού δείγματος ούρων με ξηρό φακό (μεγέθυνση x 400), αριθμός πυοσφαιρίων >10 είναι παθολογικός (Mc Comack, 1986).

Το έκκριμα πρέπει να λαμβάνεται δύο ώρες μετά την τελευταία ούρηση και αυτό είναι απαραίτητο όταν η εξέταση γίνεται για την παρακολούθηση της θεραπείας. Μερικοί κλινικοί θέτουν τη διάγνωση της N.G.U. όταν υπάρχει ορατό έκκριμα ουρήθρας, εφόσον όμως υπάρχουν και ήπιες ή ασυμπτωματικές μορφές λοίμωξης, ένα τόσο αυστηρό κριτήριο μπορεί να αποκλείσει ορισμένους ασθενείς.

Σήμερα το *C. trachomatis* θεωρείται το σπουδαιότερο αίτιο της N.G.U., καλύπτοντας το 30-50% των περιπτώσεων (Schachter, 1978). Η τριχομονάδα του κόλπου και ο ιός του απλού έρπητα προκαλούν επίσης N.G.U. σε αναλογία όμως όχι μεγαλύτερη από 5%.

Μεταγονοκοκκική ουρηθρίτιδα (P.G.U.)

Έτσι χαρακτηρίζεται η επιμένουσα ή υποτροπιάζουσα ουρηθρίτιδα που δεν προκαλείται από τον γονόκοκκο αλλά συμβαίνει σε άνδρες μετά από θεραπεία για βλεννόρροια. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι περίπου 20% των ανδρών με γονοκοκκική ουρηθρίτιδα έχουν μολυνθεί και με *C. trachomatis* (Holmes et al., Stamm et al., 1984). Όλα αυτά τα άτομα με διπλή μόλυνση θα αναπτύξουν P.G.U. εάν μόνο μία β-λακτάμη χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της ουρηθρίτιδάς τους (Stamm et al., 1984). Αυτός είναι ο λόγος που, τελευταία, στις Ηνωμένες Πολιτείες, συνιστούν στη μη επιπλεγμένη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα και τη χορήγηση ενός αντιμικροβιακού παράγοντα αποτελεσματικού έναντι του *C. trachomatis*, όπως η τετρακυκλίνη ή ντοξυσυκλίνη.

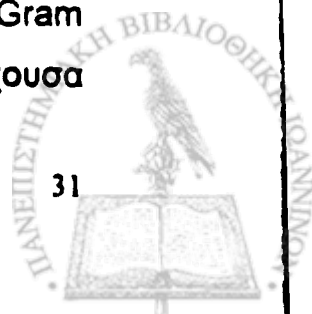


Τα συμπτώματα αρχίζουν 1-2 εβδομάδες μετά τη θεραπεία για βλεννόρροια και τα διαγνωστικά κριτήρια είναι παρόμοια με αυτά της μη γονοκοκκικής ουρηθρίτιδας.

Επιδιδυμίτιδα

Στις περιοχές που η χλαμυδιακή ουρηθρίτιδα είναι συχνή, παρουσιάζονται τα περισσότερα περιστατικά χλαμυδιακής επιδιδυμίτιδας (Berger et al., 1978). Η οξεία επιδιδυμίτιδα είναι μια επιπλοκή της N.G.U., κυρίως μετά από μαλάξεις του προστάτη ή εισαγωγή οργάνων στην ουρήθρα σε ασθενείς χωρίς θεραπεία. Αν και δεν είναι γνωστό πόσο συχνή είναι η λοίμωξη, το γεγονός ότι το *C. trachomatis* είναι δυνητικά παθογόνο για την επιδιδυμίτιδα επιβάλλει την αναγκαιότητα για πλήρη θεραπεία των λοιμώξεων της ουρήθρας.

Σε άνδρες ηλικίας μικρότερης των 35 ετών τα περισσότερα επεισόδια οξείας επιδιδυμίτιδας οφείλονται στη *N. gonorrhoeae* ή στο *C. trachomatis*, ή και στους δύο αυτούς μικροοργανισμούς (Berger et al., 1978). Πολλές φορές υπάρχει ένδειξη ουρηθρίτιδας. Αυτοί οι δύο παθογόνοι μικροοργανισμοί που μεταδίδονται σεξουαλικά μπορούν να απομονωθούν από υγρό που λαμβάνεται από παρακέντηση της επιδιδυμίδας που φλεγμαίνει, αν και σπάνια η παρακέντηση συνιστάται στην κλινική πράξη. Σε παρασκευάσματα από έκκριμα της ουρήθρας, χρωματισμένα Gram, πιθανόν να βρεθούν ενδοκυττάριοι Gram αρνητικοί διπλόκοκκοι ενδεικτικοί γονοκοκκικής λοίμωξης. Η θεραπεία όμως πρέπει να γίνει με αντιμικροβιακά δραστικά έναντι της *N.gonorrhoeae* και *C. trachomatis* εφόσον ένα αρνητικό Gram παρασκεύασμα δεν αποκλείει *N. gonorrhoeae* σ' ένα ασθενή με μη συμπτωματική ουρηθρίτιδα, όπως συχνά συμβαίνει στις περιπτώσεις επιδιδυμίτιδας. Παρομοίως ένα Gram θετικό για γονόκοκκο παρασκεύασμα δεν αποκλείει συνυπάρχουσα χλαμυδιακή λοίμωξη.



Σε άνδρες ηλικίας άνω των 35 ετών, τα περισσότερα επεισόδια επιδιδυμίτιδας οφείλονται σε Gram αρνητικά βακτηρίδια όπως το κολοβακτηρίδιο, την ψευδομονάδα την αεριογόνο και σχετίζονται με λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος. Συνήθως εμφανίζονται ως επιπλοκές μιας απόφραξης του ουροποιητικού συστήματος ή μετά αφαίρεση του προστάτη (Berger et al., 1978).

Προστατίτιδα

Η οξεία μικροβιακή προστατίτιδα συνήθως προκαλείται από τον γονόκοκκο και τα εντεροβακτηριοειδή, όπως το κολοβακτηρίδιο. Η χρόνια μικροβιακή προστατίτιδα επίσης προκαλείται από εντεροβακτηριοειδή. Η χρόνια μη μικροβιακή προστατίτιδα δεν συνδέεται με λοίμωξη του ουροποιητικού συστήματος και το αίτιό της συζητείται χωρίς να έχει προσδιορισθεί με ακρίβεια.

Τα χλαμύδια δεν θεωρούνται συχνό αίτιο οποιουδήποτε τύπου προστατίτιδας. Πράγματι, η προστατίτιδα είναι η μόνη από τις λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος του άνδρα όπου η χλαμυδιακή αιτιολογία έχει ερευνηθεί αλλά δεν έχει αποδειχθεί (Mardh et al., 1978).

Πρωκτίτιδα

Οι ομοφυλόφιλοι μολύνονται με το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα ή με τους άλλους ορότυπους του *C. trachomatis*. Η πρωκτίτιδα που προκαλείται από τους ορότυπους του αφροδισίου λεμφοκοκκιώματος είναι πολλές φορές σοβαρή και ομοιάζει με ελκωτική πρωκτίτιδα. Οι άλλοι ορότυποι προκαλούν συνήθως ηπιότερη μορφή πρωκτίτιδας και απαιτείται διαφορική διάγνωση από άλλα αίτια πρωκτίτιδας (Quinn et al., 1981).



3.Λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος των γυναικών

Λοιμώξεις του τραχήλου

Στο γεννητικό σύστημα της γυναίκας το *C. trachomatis* μπορεί να προκαλέσει λοίμωξη του τραχήλου, της ουρήθρας, των βαρθολινείων αδένων και των σαλπίνγων. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων χρόνων μία σειρά νέων κλινικών εκδηλώσεων του γεννητικού συστήματος, που συνδέονται με χλαμυδιακή λοίμωξη στις γυναίκες έχει διερευνηθεί. Τέτοιες κλινικές εκδηλώσεις είναι η ενδομητρίτιδα, η περιτονίτιδα, η περιηπατίτιδα και πρόσφατα η περισκωληκοειδίτιδα. Γενικώς είναι αποδεκτό ότι το *C. trachomatis* δεν προσβάλλει καταρχήν πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα. Πρόσφατες όμως εργασίες δείχνουν ότι συμμετέχει στην αιτιολογία της κολπίτιδας γυναικών μετά από υστερεκτομή (Barton et al., 1985) και της κολπίτιδας κοριτσιών της προεφηβικής ηλικίας (Gump, 1985).

Τα αποτελέσματα της χλαμυδιακής λοίμωξης του τραχήλου είναι πολύ δύσκολο να καθοριστούν και οι λόγοι είναι: 1) πολλοί τράχηλοι από τους οποίους απομονώθηκε το *C. trachomatis* είναι φυσιολογικοί ή παρουσιάζουν μία διάβρωση που δεν είναι πάντοτε δείκτης φλεγμονής και 2) ο τράχηλος είναι μία περιοχή που παρουσιάζει αλλαγές από τραυματικά ή ορμονικά αίτια που δεν μπορούν να διακριθούν από αυτά που προκαλούνται από την παρουσία του μικροοργανισμού. Εντούτοις, δεν υπάρχει αμφιβολία ότι πολλές αλλαγές στον τράχηλο είναι το άμεσο αποτέλεσμα της λοίμωξης, όπως βρέθηκε από την μακροχρόνια παρακολούθηση με αναζήτηση των χλαμυδίων μετά αντιμικροβιακή θεραπεία γυναικών που είχαν εκτεθεί στην λοίμωξη. Βέβαια οι αλλαγές που παρατηρούνται δεν είναι ειδικές και παρατηρούνται και σε άλλες λοιμώξεις.

Το *C. trachomatis* μπορεί να παραμείνει στον μολυσμένο τράχηλο για αρκετούς μήνες ή χρόνια εάν δεν γίνει η κατάλληλη θεραπευτική αγωγή. Εάν στο διάστημα αυτό η λοίμωξη του τραχήλου μπορεί να προκαλέσει γυναικολογικές ανωμαλίες, όπως πρόωρη αποβολή, ενδομήτριο θάνατο, πρόωρο τοκετό ή δυσπλασία του τραχήλου μέχρι σήμερα δεν είναι διευκρινισμένο. Μακροχρόνιες μελέτες με προοπτική και οροεπιδημιολογικές εργασίες θα μπορούσαν να δώσουν απάντηση σ' αυτά τα ερωτήματα.

Η λοίμωξη του τραχήλου με *C. trachomatis* είναι πολύ συχνή στις γυναίκες που επισκέπτονται κλινικές για σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα. Στο Ηνωμένο Βασίλειο έχουν ανακοινωθεί από αυτές τις ειδικές κλινικές αναλογίες που κυμαίνονται από 13-31% (Hilton et al., 1974, Oriel et al., 1974, Ridgway et al., 1977). Οι περισσότερες απομονώσεις γίνονται από γυναίκες που είχαν επαφή με άνδρες που έπασχαν από N.G.U. Περίπου από το ένα τρίτο αυτών των γυναικών απομονώνονται χλαμύδια (Hilton et al., 1974, Rees et al., 1977). Καλλιέργειες τραχηλικού εκκρίματος έγιναν και σε ασθενείς από κέντρα οικογενειακού προγραμματισμού, γυναικολογικές και άλλες κλινικές που παρέχουν υπηρεσίες στις γυναίκες. Αν και οι διαφορετικές κλινικές έχουν πληθυσμούς που δεν μπορούν να συγκριθούν μεταξύ τους, είναι σαφές ότι οι αναλογίες απομόνωσης *C. trachomatis* είναι χαμηλές συγκρινόμενες με αυτές των κλινικών για σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα. Το ποσοστό απομόνωσης *C. trachomatis* σε γυναίκες με τραχηλίτιδα, γυναικολογικής κλινικής, ήταν περίπου 8% (Φραντζίδου και συν., 1989).

Με δεδομένο ότι είναι σοβαρές και επικίνδυνες οι χλαμυδιακές λοιμώξεις των νεογνών, η συχνότητα των λοιμώξεων αυτών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Υπάρχει βέβαια μεγάλη ποικιλία όσον αφορά στη συχνότητα των χλαμυδιακών



λοιμώξεων κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, που εξαρτάται από την ηλικία, τη σεξουαλική δραστηριότητα και την κοινωνικοοικονομική κατάσταση των γυναικών.

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την απομόνωση μπορεί να είναι ορμονικοί, π.χ. στις γυναίκες που λαμβάνουν αντισυλληπτικά από το στόμα η αναλογία είναι μεγαλύτερη από αυτή των γυναικών που δεν λαμβάνουν (Ripa et al., 1979). Επίσης η ίδια η εγκυμοσύνη και ο χρόνος συλλογής του δείγματος μπορούν να επηρεάσουν την απομόνωση του μικροοργανισμού. Μικτές λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος είναι συχνές και το *C. trachomatis* μπορεί να συνυπάρχει με γονόκοκκο, μυκόπλασμα, ιό του απλού έρπητα και άλλους μικροοργανισμούς (Wentworth et al., 1973).

Δεν υπάρχουν καθορισμένα συμπτώματα της χλαμυδιακής λοίμωξης του τραχήλου στις γυναίκες. Ένα ποσοστό γυναικών 20% με επιβεβαιωμένη λοίμωξη βρέθηκε να έχει τελείως φυσιολογικό τράχηλο (Hilton et al., 1974, Rees et al., 1977). Οι υπόλοιπες γυναίκες μπορεί να εμφανίζουν διάβρωση του τραχήλου, ή οξεία τραχηλίτιδα ή ακόμη θυλακιώδη τράχηλο. Στην περίπτωση της τραχηλικής διάβρωσης τα πλακώδη επιθήλια του εξωτραχήλου αντικαθίστανται από κυλινδρικά επιθήλια και φαίνονται σαν μία ερυθρά περιοχή που συνεχίζεται προς τον ενδοτράχηλο. Ο τράχηλος με εικόνα διάβρωσης συνδέθηκε με λοίμωξη από το *C. trachomatis* (Schachter et al., 1975).

Στην περίπτωση της οξείας τραχηλίτιδας που εμφανίζεται κυρίως με διήθηση του τραχήλου, ερύθημα, ανώμαλη έκκριση, οίδημα και υπερτροφική διάβρωση, το έκκριμα είναι βλεννοπυώδες ή πυώδες. Εάν τα ευρήματα της τραχηλίτιδας είναι οίδημα της περιοχής που καλύπτεται από κυλινδρικό επιθήλιο και βλεννοπυώδη ενδοτραχηλική έκκριση, τότε υπάρχει πολύ μεγάλη πιθανότητα αυτή να οφείλεται στο *C. trachomatis* (Tait et al., 1980).

Τέλος, η λοίμωξη του τραχήλου μπορεί να εμφανισθεί με τη μορφή τραχηλίτιδας με λεμφοειδή θυλάκια. Οι Dunlop και συνεργάτες (1966), την παρατήρησαν σε 18 (90%) από τις 20 μητέρες παιδιών με επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα.

Κυτταροπλασματικά έγκλειστα στα επιθηλιακά κύτταρα σχετίζονται ειδικά με χλαμυδιακή λοίμωξη από χρόνια. Έγκλειστα έχουν επίσης βρεθεί σε αποπίπτοντα επιθηλιακά τραχηλικά κύτταρα. Οι Schachter και Dawson (1978), αμφέβαλλαν αν όλα τα έγκλειστα που βρέθηκαν σε μία εργασία του Naib (1970) ήταν πράγματι χλαμυδιακά. Οι άλλες κυτταρικές ανταποκρίσεις στη χλαμυδιακή λοίμωξη δεν είναι παθογνωμικές. Σε ξέσματα τραχήλου και επιπεφυκότα υπάρχουν εκφυλισμένα επιθήλια και φλεγμονώδες έκκριμα με πολυμορφοπύρρηνα, λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και μεγάλα μονοπύρρηνα. Συμπερασματικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι η κυτταρολογία είναι ένας από τους πολλούς δείκτες φλεγμονής που μπορεί να δώσει θετικά αποτελέσματα στη χλαμυδιακή λοίμωξη, χωρίς όμως αυτά να είναι ειδικά.

Διάφορες, τέλος, μελέτες ερευνητών (Rees et al., 1977, Mc Cormack et al., 1979) έδειξαν ότι οι χλαμυδιακές λοιμώξεις στις γυναίκες που δεν κάνουν θεραπεία μπορεί να επιμένουν για πολλούς μήνες.

Δυσπλασία του τραχήλου

Λίγα είναι γνωστά για τα μακροχρόνια αποτελέσματα της χλαμυδιακής λοίμωξης του τραχήλου. Η συχνότητα αυτής στις γυναίκες με δυσπλασία ερευνήθηκε από τους Schachter και συνεργάτες (1975) και Raavonen και συνεργάτες (1979) με απομόνωση ή με μέτρηση των αντισωμάτων με ανοσοφθορισμό, ή με συνδυασμό των δύο μεθόδων. Οι τίτλοι αντισωμάτων στις γυναίκες με δυσπλασία βρέθηκαν υψηλότεροι συγκριτικά με την ομάδα των μαρτύρων. Όμως οι υψηλοί τίτλοι αντισωμάτων σχετίζονται και με τη μεγάλη σεξουαλική δραστηριότητα



και τους πολλαπλούς ερωτικούς συντρόφους, τα οποία είναι χαρακτηριστικά των γυναικών με δυσπλασία του τραχήλου.

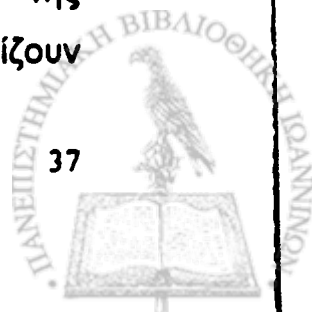
Προς το παρόν, από τις υπάρχουσες ενδείξεις, ειδική σχέση μεταξύ του *C. trachomatis* και της δυσπλασίας του τραχήλου δεν μπορεί να υποστηριχθεί.

Σαλπινγίτιδα

Δεδομένα από την μελέτη ασθενών με σαλπινγίτιδα (Mardh et al., 1977) και πειράματα σε πειραματόζωα (Moller και Mardh, 1980) έδειξαν ότι το *C. trachomatis* είναι δυνατό να προκαλέσει φλεγμονή των σαλπινγγων. Ο κίνδυνος μίας οξείας σαλπινγίτιδας μετά από χλαμυδιακή λοίμωξη του τραχήλου δεν είναι με βεβαιότητα γνωστός, αλλά πρέπει να είναι υψηλός τουλάχιστον όπως και στην γονοκοκκική λοίμωξη.

Δεν μπορούμε να υποστηρίξουμε ότι το *C. trachomatis* είναι το σπουδαιότερο αίτιο σαλπινγίτιδας στον κόσμο. Η αιτιολογία της νόσου πρέπει να ποικίλλει από χώρα σε χώρα. Στις Ηνωμένες Πολιτείες ο Sweet και συνεργάτες (1980) βρήκαν στις ασθενείς τους ότι το *C. trachomatis* εμπλέκεται ελάχιστα στην παθογένεση της PID. Αυτό βέβαια δεν απορρίπτει την σπουδαιότητα της υπόθεσης που μελετάται με πολλή προσοχή σε πολλές χώρες.

Τα τελευταία χρόνια λίγοι είναι οι ερευνητές που δεν δέχονται ότι το *C. trachomatis* αποτελεί σημαντικό αίτιο σαλπινγίτιδας (Bowie και Jones, 1981, Paperny et al., 1981, Gjonnaess et al., 1982, Wolner-Hanssen et al. 1985). Εντούτοις η σχετική αναλογία των περιπτώσεων που οφείλονται στο *C. trachomatis* ποικίλλει από τη μία περιοχή στην άλλη. Συνήθως υπάρχει μία ανάστροφη σχέση μεταξύ γονοκοκκικής σαλπινγίτιδας και άλλων μικροβιακών σαλπινγίτιδων και της σαλπινγίτιδας από χλαμύδια. Στις Σκανδιναβικές χώρες όπου σπανίζουν



οι άλλης αιτιολογίας σαλπιγγίτιδες, το *C. trachomatis* ενοχοποιείται στις 80% των περιπτώσεων σαλπιγγίτιδων γνωστής αιτιολογίας.

Οι περισσότεροι εργαστηριακοί συμφωνούν ότι η ανιούσα διασπορά των χλαμυδίων στη γεννητική χώρα της γυναίκας γίνεται κατ' επινέμηση ιστών (Mardh et al., 1981). Λίγες είναι οι ενδείξεις ότι το *C. trachomatis* μπορεί να προκαλέσει διάσπαρτο λοίμωξη, π.χ. με το αίμα. Ούτε υπάρχουν ενδείξεις μέχρι τώρα ότι η άνοδος χλαμυδίων στη γεννητική χώρα μπορεί να γίνει με τα λεμφαγγεία.

Θα πρέπει επομένως να υπάρχουν παράγοντες οι οποίοι ευνοούν ή εμποδίζουν τη διασπορά δια μέσου του γεννητικού σωλήνα, εφόσον μία τέτοια διασπορά συμβαίνει σε μία από τις δέκα γυναίκες που υφίστανται λοίμωξη (Westrom και Mardh, 1983). Τέτοιοι παράγοντες που ευνοούν τη διασπορά είναι: οι αυξημένες εκκρίσεις του τραχήλου, η σεξουαλική διέγερση, η χρησιμοποίηση ενδομητρικών σπειραμάτων και οι χειρισμοί κατά τη διενέργεια υστεροσαλπιγγιογραφίας ή μικροεπεμβάσεων στην ενδομητρική κοιλότητα. Ελαττωμένες εκκρίσεις αντιθέτως, όπως μετά τη χρήση αντισυλληπτικών από το στόμα, ελατώνουν τον κίνδυνο οξείας σαλπιγγίτιδας από μικρόβια που υπάρχουν στον τράχηλο.

Η σαλπιγγίτιδα είναι μία σοβαρή και αρκούντως προβληματική νόσος. Εκτός από την άμεση νοσηρότητα, η επακόλουθη ολική ή μερική απόφραξη των σαλπίγγων μπορεί να οδηγήσει σε στειρότητα ή και αυξημένο κίνδυνο έκτοπης εγκυμοσύνης.

Τα τελευταία δέκα χρόνια έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για το ρόλο του *C. trachomatis* στις φλεγμονώδεις νόσους της πυέλου (Pelvic Inflammatory Diseases), όρος που χρησιμοποιείται συνήθως για τις λοιμώξεις των γυναικείων οργάνων της μικρής πυέλου. Οι περισσότεροι κλινικοί θεωρούν την PID συνώνυμη με εμπύρετο περιτονίτιδα της πυέλου, αλλά και πολλοί συγγραφείς περιλαμβάνουν στον όρο ακόμη και πολύ ελαφρότερες γεννητικές λοιμώξεις. Μολονότι υπάρχουν στάδια



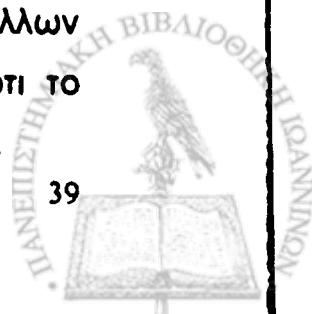
στην πορεία της ίδιας νόσου, η επέκτασή της είναι καλύτερα να περιγράφεται χρησιμοποιώντας ανατομικούς όρους, όπως ενδομητρίτιδα, παραμητρίτιδα, περιτονίτιδα της πυέλου, πυελικό απόστημα (σαλπγγων ή ωθηκών).

Πολλοί ερευνητές μελέτησαν περιπτώσεις σαλπγγίτιδας και γενικώς φλεγμονών των οργάνων της μικράς πυέλου με σκοπό να ερευνηθεί ο ρόλος του *C. trachomatis* σ' αυτές τις λοιμώξεις. Κυρίως έγιναν προσπάθειες απομόνωσης του μικροοργανισμού από τις σάλπιγγες και από άλλα πυελικά δείγματα. Επίσης έγιναν πολλές ορολογικές μελέτες με τη μέθοδο του μικροανοσοφθορισμού για τη μέτρηση IgG και IgM αντισωμάτων. Τα πιο πειστικά ευρήματα ότι το *C. trachomatis* εμπλέκεται στην παθογένεια της PID είναι αυτά της ομάδας Lund στη Σουηδία, που μελέτησε συστηματικά τη σαλπγγίτιδα για πολλά χρόνια. Η ομάδα αυτή (Mardh et al., 1977) κατόρθωσε να απομονώσει το *C. trachomatis* σε αναλογία 30% από τις σάλπιγγες σε περιστατικά που η σαλπγγίτιδα επιβεβαιώθηκε με λαπαροσκόπηση.

Οι Raavonen και συνεργάτες (1979) σε περιστατικά οξείας σαλπγγίτιδας απομόνωσαν το *C. trachomatis* σε αναλογία 26% από τον τράχηλο και την ουρήθρα. Από την ίδια ομάδα βρέθηκε ότι G.M.T. των IgG αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων στις σαλπγγίτιδες ήταν 219 στις γυναίκες με θετικές καλλιέργειες, 73 στις γυναίκες με αρνητικές καλλιέργειες, ενώ ήταν 80 στην ομάδα των μαρτύρων.

Από τους Treharne και συνεργάτες (1979), με τη μέθοδο του μικροανοσοφθορισμού, βρέθηκε ότι η αναλογία γυναικών που είχαν αντιχλαμυδιακά IgG αντισώματα σε τίτλο > 64 ήταν 62%, ενώ στην ομάδα των μαρτύρων τα επίπεδα αυτά βρέθηκαν σε αναλογία 10,5%.

Τα ευρήματα των ανωτέρω ερευνητών καθώς και πολλών άλλων (Simmons et al., 1979, Muller et al., 1979) συνηγορούν στο ότι το *C. trachomatis* εμπλέκεται οπωσδήποτε στην παθογένεια των PIDs.



Στη χλαμυδιακή σαλπιγγίτιδα, η ασθενής είναι συνήθως νέο άτομο (75% κάτω των 25 ετών) και η κλινική εικόνα της νόσου είναι ήπια συγκριτικά με άλλης αιτιολογίας σαλπιγγίτιδα. Συνήθως η ασθενής επισκέπτεται τον κλινικό παραπονούμενη για ελαφρύ πόνο στο υπογάστριο για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από επτά ημέρες. Ο πυρετός είναι σπάνιος, αλλά η καθίζηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων συνήθως είναι υψηλή. Ακανόνιστες αιμορραγίες μπορεί να αναφερθούν. Κατά την εξέταση τα αντικειμενικά ευρήματα είναι ελάχιστα και η γενική κατάσταση είναι καλή. Παρόλα αυτά, η λαπαροσκόπηση συχνά αποκαλύπτει έντονη φλεγμονή των σαλπίγγων.

Στη γονοκοκκική σαλπιγγίτιδα η κλινική εικόνα είναι συνήθως έντονη, με πυρετό και πόνο κατά την έμμηνο ρύση. Οι ασθενείς με γονοκοκκική σαλπιγγίτιδα προσέρχονται γρηγορότερα στον ιατρό. Η σαλπιγγίτιδα που οφείλεται σε αναερόβια μικρόβια παρατηρείται συνήθως σε μεγαλύτερης ηλικίας γυναίκες και η κλινική εικόνα είναι έντονη. Η έναρξη της νόσου είναι οξεία και ο πυρετός είναι ο κανόνας.

Αρχικά αποτελέσματα μακροχρόνιων μελετών για την πρόγνωση της γονιμότητας, κυρίως των Westrom και Mardh (1983) σε γυναίκες με οξεία σαλπιγγίτιδα έδειξαν ότι η χλαμυδιακή σαλπιγγίτιδα μπορεί να προκαλέσει βλάβη των σαλπίγγων με επακόλουθο την αδυναμία συλλήψεως. Επίσης γυναίκες με πρόβλημα συλλήψεως μετά από χλαμυδιακή σαλπιγγίτιδα δίδουν υψηλότερους τίτλους αντισωμάτων και σε μεγαλύτερη συχνότητα από γυναίκες με το ίδιο πρόβλημα άλλης όμως αιτιολογίας. Φαίνεται λοιπόν ότι τα χλαμύδια πρέπει να είναι ένα από τα συνήθη αίτια απόφραξης των σαλπίγγων (Punnonen et al., 1979, Henry-Suchet et al., 1980, Conway et al., 1984).



Χλαμυδιακή ενδομητρίτιδα

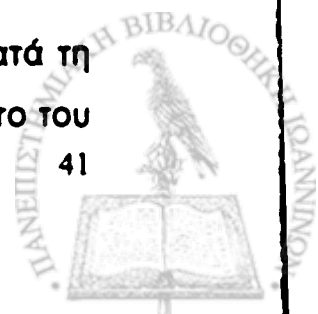
Η χλαμυδιακή ενδομητρίτιδα έχει καθιερωθεί σαν νέα νοσολογική οντότητα τα τελευταία χρόνια (Mardh et al., 1981). Η νόσος συχνά συνυπάρχει με χλαμυδιακή τραχηλίτιδα και σαλπιγγίτιδα, αλλά υπάρχουν και περιπτώσεις που απουσιάζει η σαλπιγγίτιδα (Raavonen et al., 1985). Στα τρία τέταρτα των περιπτώσεων οξείας σαλπιγγίτιδας από *C. trachomatis* υπάρχουν ιστολογικές ενδείξεις ενδομητρίτιδας. Ο μικροοργανισμός έχει απομονωθεί από το ενδομήτριο σε αναλογία 40% των περιπτώσεων.

Στις νεαρές γυναίκες, η χλαμυδιακή ενδομητρίτιδα προκαλεί ακανόνιστες αιμορραγίες. Στις γυναίκες φορείς του *C. trachomatis* συμβαίνει συχνά ενδομητρίτιδα μετά από αποβολή ή μετά από φυσιολογικό τοκετό (Heisterberg et al., 1985).

4.Στείρωση - Επίδραση στο κύημα

Το *C. trachomatis* έχει ενοχοποιηθεί και ως αίτιο στειρότητας χωρίς απόφραξη των σαλπίγγων. Οι Raavonen και συνεργάτες (1979) απομόνωσαν το *C. trachomatis* από τον τράχηλο γυναικών με προβλήματα γονιμότητας και ανοικτές σάλπιγγες σε αναλογία 25%, ενώ η συχνότητα απομόνωσης στον γενικό γυναικείο πληθυσμό ήταν 9%. Όμως υπάρχουν εργασίες που σε παρόμοιους πληθυσμούς δεν παρατηρήθηκε διαφορά. Επίσης, αν ληφθεί υπόψη ότι η χορήγηση ντοξυσυκλίνης εμπειρικά σε γυναίκες χωρίς απόφραξη των σαλπίγγων έχει αποτύχει να βελτιώσει τη γονιμότητα, φαίνεται ότι κανένα τελικό συμπέρασμα δεν μπορεί να εξαχθεί σχετικά με το ρόλο του *C. trachomatis* στη γονιμότητα.

Υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι η λοίμωξη με *C. trachomatis* κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να προκαλέσει ενδομήτριο θάνατο του



εμβρύου (Martin et al., 1979). Το υψηλότερο ποσοστό ενδομήτριων θανάτων εμβρύων σε γυναίκες με καλλιέργεια θετική κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και η υψηλή αναλογία λοιμώξεων μετά τον τοκετό σε μερικές γυναίκες, θα πρέπει να εξετασθεί με προσοχή. Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι ο *C. trachomatis* είναι ένας σημαντικός και συνεχής κίνδυνος για την υγεία της γυναίκας.

Διάφορες εργασίες δείχνουν ότι το *C. trachomatis* μπορεί να προκαλέσει πρόωρο τοκετό (Rees et al., 1977). Η προωρότητα μπορεί να οφείλεται σε χλαμυδιακή λοίμωξη των εμβρυϊκών υμένων, που προκαλεί πρόωρη ρήξη αυτών και αποβολή του εμβρύου.

Η παθογένεση όμως της προωρότητας, που σχετίζεται με τα χλαμύδια είναι θεωρητική και δεν είναι βέβαιο κατά πόσον είναι πραγματική κλινική οντότητα. Η συχνότητά της επίσης είναι άγνωστη.

5. Νεογνικές λοιμώξεις

Ενώ από πολλά χρόνια ήταν γνωστό ότι το *C. trachomatis* είναι παθογόνο για τους οφθαλμούς των νεογνών, η αναπνευστική λοίμωξη αυτών από τον μικροοργανισμό αναγνωρίστηκε ως νοσολογική οντότητα τα τελευταία δέκα χρόνια. Η παθογένεση της πνευμονίας δεν είναι ακόμη γνωστή. Αυτή εμφανίζεται μετά αποικισμό του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος με χλαμύδια από την γεννητική περιοχή της μητέρας και πρέπει να οφείλεται στην άμεσο παθογόνο δράση του μικροοργανισμού στους πνεύμονες. Υπάρχει βέβαια και πιθανότητα μικτών λοιμώξεων, π.χ. με μεγαλοκυτταρικό ιό. Αν και τα αξιώματα του Koch δεν πληρούνται στους ανθρώπους, μια παρόμοια νόσος μπορεί να προκληθεί στους πιθήκους μετά από πειραματικό εμβολιασμό αυτών με στελέχη *C. trachomatis* της γεννητικής περιοχής.



Σε αντίθεση με την επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα, που είναι συχνή στις Δυτικές χώρες της Ευρώπης, σχεδόν όλες οι περιπτώσεις χλαμυδιακής πνευμονίας έχουν περιγραφεί στις Ηνωμένες Πολιτείες. Εάν αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι παιδίατροι στην Ευρώπη αποτυγχάνουν να κάνουν διάγνωση ή η λοίμωξη παρουσιάζεται με άλλη μορφή ή δεν είναι συχνή, είναι δύσκολο να απαντηθεί. Πολλοί ερευνητές (Schachter et al., 1979) υποστηρίζουν ότι είναι απαραίτητο, εκτός από την καλλιέργεια, να γίνεται ορολογικός έλεγχος για IgM αντιχλαμυδιακά αντισώματα, ώστε να είναι δυνατή η διάκριση της χλαμυδιακής από την ιογενή πνευμονία.

Σήμερα είναι αποδεκτό ότι το *C. trachomatis* προκαλεί πνευμονία και βρογχιολίτιδα, θα πρέπει όμως να ερευνηθεί η συχνότητα της νόσου στις χώρες που το *C. trachomatis* είναι ένα από τα πιο συχνά αίτια λοιμώξεων του γεννητικού συστήματος.

Δεν έχουν ερευνηθεί ακόμη οι λοιμώξεις της ανώτερης αναπνευστικής οδού και οι ήπιες λοιμώξεις της κατώτερης αναπνευστικής οδού που μένουν αδιάγνωστες λόγω των ελαφρών συμπτωμάτων.

Αν και μένουν αρκετές ερωτήσεις που θέλουν απάντηση, όπως εάν η πνευμονία των νεογνών μπορεί να είναι υποκλινική ή εάν ο αποικισμός του πρωκτού του νεογνού σημαίνει ότι και άλλες περιοχές του γαστρεντερικού συστήματος είναι μολυσμένες και μπορεί να προκαλέσει αυτό αργότερα κλινική νόσο, δεν μπορούμε να αρνηθούμε ότι το *C. trachomatis* είναι παθογόνο για το αναπνευστικό σύστημα του νεογνού με σοβαρά επακόλουθα.

Όταν μία έγκυος γυναίκα με χλαμυδιακή λοίμωξη του γεννητικού συστήματος γεννήσει με φυσιολογικό τοκετό, το νεογνό μπορεί να αποικισθεί με το *C. trachomatis* μέσα στις πρώτες εβδομάδες της ζωής του.

Κατά τη διάρκεια αυτού του χρονικού διαστήματος έχουν βρεθεί χλαμύδα στα παρακάτω μέρη του σώματός του:

- επιπεφυκότα
- ρινοφάρυγγα
- μέσο ουσ
- τραχεία
- πνεύμονες (βιοψία)
- πρωκτό
- κόλπο

Σε ορισμένες περιπτώσεις ο αποικισμός με το *C. trachomatis* μιας περιοχής, π.χ. του οφθαλμού, συχνά συνδέεται με κλινική νόσο, ενώ σε άλλες περιπτώσεις, π.χ. αποικισμός του πρωκτού ή του κόλπου, δεν σημαίνει εμφανή νόσο. Η σπουδαιότητα του αποικισμού στις περιπτώσεις αυτές είναι επομένως αβέβαιη.

Η επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα των νεογνών εμφανίζεται στα περισσότερα νεογέννητα μεταξύ 3ης και 13ης ημέρας της ζωής τους (Rees et al., 1977). Τα συμπτώματα ποικίλουν από ήπια επιπεφυκίτιδα μέχρι σοβαρή φλεγμονή. Τα κλινικά συμπτώματα της νόσου είναι τα ίδια όπως και στους ενήλικες.

Επειδή η επώαση της νόσου συνήθως είναι μεγαλύτερη από το χρόνο παραμονής του νεογνού στο νοσοκομείο, πολλές από τις περιπτώσεις διαφεύγουν και έτσι είναι δύσκολο να προσδιορισθεί η πραγματική συχνότητα της χλαμυδιακής επιπεφυκίτιδας των νεογνών. Στη Μ. Βρετανία, σε επιλεγμένες ομάδες παιδιών με νεογνική επιπεφυκίτιδα, το *C. trachomatis* απομονώθηκε σε ποσοστά που κυμαινόταν από 16-36% (Rees et al., 1977, Darougar, 1977). Καθώς η συχνότητα των χλαμυδιακών λοιμώξεων στις γυναίκες διαφέρει κατά γεωγραφικές περιοχές, η συχνότητα της χλαμυδιακής επιπεφυκίτιδας σε παιδιά που γεννήθηκαν από μολυσμένες μητέρες ποικίλλει ευρέως από 18-74%.

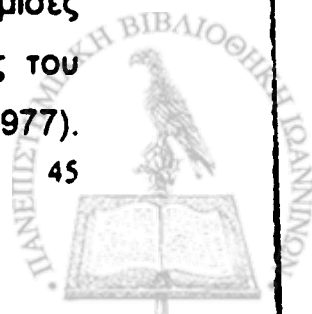


Νεογνά με επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα πολλές φορές παρουσιάζουν βλεννοπυώδη ρινίτιδα και το *C. trachomatis* έχει απομονωθεί από τις ρινικές εκκρίσεις αυτών. Ο αποικισμός του ρινοφάρυγγα με χλαμύδια δεν συνοδεύεται απαραίτητα από κλινική νόσο. Έτσι ο μικροοργανισμός μπορεί να ανευρεθεί στον ρινοφάρυγγα νεογνών με επιπεφυκίτιδα χωρίς αναπνευστική νόσο, ή σε νεογνά χωρίς εμφανή νόσο του αναπνευστικού συστήματος ή του οφθαλμού (Schachter et al., 1979).

Λοίμωξη του μέσου ωτός με *C. trachomatis* μπορεί να συμβεί μετά από λοίμωξη του φάρυγγα. Υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι το *C. trachomatis* προκαλεί ωτίτιδα με έκκριση σε νεογνά με χλαμυδιακή λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος.

Ο αποικισμός της αναπνευστικής οδού μπορεί να οδηγήσει σε πνευμονία. Αυτή είναι μία σχετικά μη τοξική νόσος, χωρίς πυρετό, που παρουσιάζεται μεταξύ 4ης και 12ης εβδομάδας της ζωής. Συχνά συνυπάρχει μερική απόφραξη των ρινικών κοιλοτήτων με βλεννώδη έκκριση και μέση ωτίτιδα, αλλά τα κύρια χαρακτηριστικά είναι ταχύπνοια και χαρακτηριστικός διακεκομμένος παροξυστικός βήχας. Η ακτινογραφία του θώρακα δείχνει υπερέκταση, με δίπλευρη συμμετρική διάμεσο διάχυση και κατά τόπους διήθηση των κυψελίδων. Το *C. trachomatis* ανευρίσκεται σε δείγματα του ρινοφάρυγγα και της τραχείας. Ο τίτλος των IgG αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων είναι πολύ υψηλός και σε μερικούς ασθενείς ανιχνεύονται και ειδικά IgM αντισώματα. Η νόσος είναι παρατεταμένη, αλλά συνήθως τα νεογνά αναρρωνύουν. Αν και υπάρχουν ορισμένες εξαιρέσεις, η πρόγνωση για τη ζωή τους είναι καλή.

Η σχέση που υπάρχει μεταξύ αυτής της πνευμονίας και της λοίμωξης του επιπεφυκότα δεν είναι εντελώς ξεκαθαρισμένη. Στις μισές περιπτώσεις δεν υπάρχει ιστορικό ή κλινικές ενδείξεις λοίμωξης του οφθαλμού και οι καλλιέργειες είναι αρνητικές (Beem και Saxon, 1977).



Από την άλλη πλευρά, η ύπαρξη αντισωμάτων σε υψηλή αναλογία στα δάκρυα υπαινίσσεται ότι αφανής ή εμφανής λοίμωξη του επιπεφυκότα δεν είναι σπάνια (Harrison et al., 1978).

Η καθυστερημένη εμφάνιση της νόσου, ακόμη και μετά το δεύτερο μήνα της ζωής, είναι παράδοξη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη βραδεία ανάπτυξη της αναπνευστικής λοίμωξης ή στην επιβράδυνση που προκαλούν τα τυχόν υπάρχοντα μητρικής προέλευσης αντισώματα. Όμως και η υπερευαισθησία πιθανόν να είναι ένας σπουδαίος παράγοντας που εξηγεί και την παρατηρούμενη αύξηση των ηωσινοφίλων.

Οι περισσότερες ανακοινώσεις για την πνευμονία των νεογνών προέρχονται από τη Β. Αμερική. Στη Μ. Βρετανία οι περιπτώσεις που έχουν ανακοινωθεί είναι σπάνιες, αν και υπάρχουν λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος και του οφθαλμού. Η διαφορετική πρωτοβάθμια περίθαλψη στις δύο αυτές χώρες δίδει μία ερμηνεία σ' αυτό το φαινόμενο.

Ο κόλπος και ο πρωκτός των νεογέννητων σ' αρκετές περιπτώσεις έχει βρεθεί αποικισμένος με το *C. trachomatis*. Αν και η μόλυνση γίνεται συνήθως κατά τη διάρκεια του τοκετού, υπάρχουν εργασίες που δείχνουν ότι μόλυνση του πρωκτού μπορεί να γίνει αργότερα από είσοδο του μικροοργανισμού από υλικά λοιμώξεων των οφθαλμών ή της ανώτερης αναπνευστικής χώρας.

6. Αφροδίσιο Λεμφοκοκκίωμα (L.G.V.)

Το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα είναι μία σεξουαλικά μεταδιδόμενη νόσος, που προκαλείται από τους οροτύπους L₁, L₂ και L₃ του



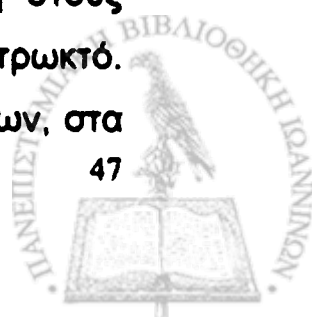
C. trachomatis. Οι ορότυποι αυτοί μπορεί να διακριθούν από τους άλλους με τη δοκιμασία του μικροανοσοφθορισμού.

Οι ορότυποι του L.G.V. διαφέρουν από τους οφθαλμο-γεννητικούς οροτύπους, στην αντιγονική σύσταση και τα βιολογικά χαρακτηριστικά, π.χ. είναι περισσότερο παθογόνοι για τα ποντίκια και αναπτύσσονται σε καλλιέργειες κυττάρων χωρίς φυγοκέντρηση. Κλινικά το L.G.V. διαφέρει από τα άλλα σύνδρομα που προκαλούνται από οφθαλμο-γεννητικούς οροτύπους, οι οποίοι μολύνουν το κυλινδρικό επιθήλιο. Στο L.G.V. οι μικροοργανισμοί εισβάλλουν στο λεμφικό ιστό και τα κυριότερα συμπτώματα της νόσου οφείλονται σε βλάβη αυτού. Δεν είναι γνωστό αν οι τρεις ορότυποι διαφέρουν στον τρόπο με τον οποίο προκαλούν τη νόσο.

Η νόσος έχει παγκόσμια διασπορά αλλά είναι πιο συχνή σε τροπικές και παρατροπικές χώρες. Μολονότι η συχνότητα της νόσου φαίνεται ότι ελαττώνεται, ακόμη πολλές περιπτώσεις σημειώνονται στις Δυτικές Ινδίες, Ανατολική και Δυτική Αφρική, στην Ινδία, Νοτιοανατολική Ασία και Νότιο Αμερική. Στις Ηνωμένες Πολιτείες υπάρχουν ενδημικές περιοχές, ενώ στη Μ.Βρετανία τα περιστατικά είναι πολύ λίγα και συνήθως τα άτομα αυτά μολύνονται στο εξωτερικό.

Σε περιοχές με υψηλή συχνότητα L.G.V. σε σεξουαλικά ενεργό πληθυσμό, οι ασυμπτωματικές λοιμώξεις είναι πολύ συχνές, κυρίως στις γυναίκες. Σε ομοφυλόφιλους άνδρες είναι επίσης σημαντικός ο αριθμός των ασυμπτωματικών λοιμώξεων του πρωκτού. Πιθανόν γι' αυτό το λόγο δεν διαγνώσκονται πολλές περιπτώσεις.

Ο χρόνος επώασης του L.G.V. είναι δύσκολο να εκτιμηθεί επειδή η αρχική βλάβη είναι παροδική. Υπολογίζεται ότι αυτός είναι 2-5 ημέρες αν και έχει περιγραφεί και μακρύτερος χρόνος. Η αρχική βλάβη στους άνδρες εντοπίζεται στο πέος και στους ομοφυλόφιλους στον πρωκτό. Στις γυναίκες, η βλάβη εντοπίζεται στο χαλινό των μικρών χειλέων, στα



μεγάλα χείλη, στον κόλπο ή στον τράχηλο. Η αρχική βλάβη είναι δυσδιάκριτη, εμφανίζεται σαν μικρή κηλίδα, φουσαλίδα ή έλκος και δεν υπάρχει πόνος. Μερικές φορές ενδοουρηθρικές βλάβες στους άνδρες προκαλούν βλεννοπυώδη έκκριση. Η βλάβη επουλώνεται γρήγορα και πολλοί ασθενείς με διαγνωσμένο L.G.V. δεν αναφέρουν τίποτα σχετικό στο ιστορικό τους και δεν φαίνεται στην κλινική εξέταση αρχική βλάβη.

Ο μικροοργανισμός από την πρωτοπαθή βλάβη μεταφέρεται στα λεμφαγγεία και ακολουθεί διόγκωση επιχωρίων λεμφοαγγλίων. Η βουβωνική λεμφαδενοπάθεια εμφανίζεται συνήθως 2-6 μήνες μετά τη μολυσματική σεξουαλική επαφή. Η βουβωνική αδενίτιδα είναι συχνότερη στους άνδρες από ότι στις γυναίκες, λόγω της λεμφικής κυκλοφορίας της γεννητικής περιοχής. Στην πλειονότητα των ασθενών, η βουβωνική λεμφαδενοπάθεια είναι μονόπλευρη. Μία σταθερή επώδυνη μάζα αναπτύσσεται, που περιλαμβάνει αρκετές ομάδες βουβωνικών και μηριαίων αδένων. Η βιοψία των αδένων δείχνει διάσπαρτα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα και μικρές μάζες επιθηλιοειδών κυττάρων. Η λοίμωξη μπορεί να υποχωρήσει αυτόματα, αλλά πιο συχνός είναι ο σχηματισμός αποστημάτων. Μεγάλοι αδένες πάνω και κάτω από τον βουβωνικό σύνδεσμο συνιστούν το σημείο ράβδωσης (Sign of the groove) το οποίο είναι διαγνωστικό χαρακτηριστικό του L.G.V. Μετά την διαπύηση μπορεί να συμβεί ρήξη ενός ή περισσότερων αποστημάτων. Το περιεχόμενο αυτών ποικίλλει από λεπτόρρευστο κίτρινο υγρό, μέχρι πυώδες ή τυρώδες υλικό. Η επούλωση είναι βραδεία και σε μία μικρή αναλογία ασθενών η παροχέτευση πύου συνεχίζεται για μήνες ή χρόνια. Όταν γίνει η επούλωση αναπτύσσονται συρρικνωμένες ουλές. Προσβολή των εν τω βάθει ιερών λεμφαδένων είναι πιθανόν να οδηγήσει στην εσφαλμένη διάγνωση της σκωληκοειδίτιδας ή περιτονίτιδας.

Τα γενικά συμπτώματα ποικίλλουν και δεν είναι ίδια για όλους τους ασθενείς. Αυτά εμφανίζονται όταν προσβληθούν ή διαπυηθούν οι

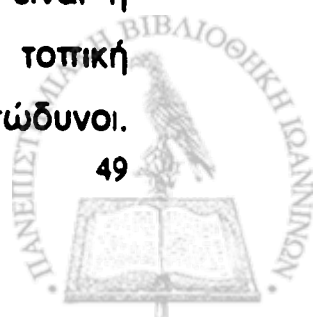


λεμφαδένες και δεν σχετίζονται με τη σοβαρότητα της τοπικής νόσου (King, 1964). Τα κυριότερα συμπτώματα είναι πυρετός, κεφαλαλγία, ανορεξία, ναυτία, έμετος και μυαλγία (Abrams, 1968). Ο αριθμός των λευκών είναι φυσιολογικός, αλλά η ταχύτητα καθίζησης ερυθρών μπορεί να είναι αυξημένη.

Η σπουδαιότερη επιπλοκή του L.G.V. είναι το γεννητικό πρωκτικό σύνδρομο (Apo-rectal syndrome). Αυτό συνίσταται σε πρωκτίτιδα, στενώματα του πρωκτού και μερικές φορές περιπρωκτικά αποστήματα και σχηματισμό συριγγίων. Το σύνδρομο είναι συχνότερο στις γυναίκες. Στις περιπτώσεις L.G.V. πρωκτίτιδας, υπάρχουν διαταραχές κενώσεων. Ο βλεννογόνος είναι οίδηματώδης, αιμορραγεί εύκολα και καλύπτεται από βλεννοπυώδες έκκριμα. Εάν γίνει έγκαιρα θεραπεία της πρωκτίτιδας πριν σχηματισθούν στενώματα, η πρόγνωση είναι καλή. Διαφορετικά αναπτύσσεται ινώδης ιστός και σχηματίζονται στενώματα μετά από μερικούς μήνες ή έτη με δυσάρεστα επακόλουθα. Περιπρωκτικά αποστήματα και συρίγγια μπορεί να υπάρχουν μεταξύ κόλπου και πρωκτού. Η θεραπεία του συνδρόμου τότε παρουσιάζει αρκετά προβλήματα.

Άλλη επιπλοκή του L.G.V. είναι η ελεφαντίαση των γεννητικών οργάνων, που οφείλεται στην απόφραξη των λεμφαγγείων και στη χρόνια ενεργό φλεγμονή.

Οι περισσότερες περιπτώσεις L.G.V. σημειώνονται σε αναπτυσσόμενες χώρες, όπου η δυνατότητα για έρευνα είναι μικρή. Η διάγνωση γίνεται με την κλινική εξέταση και απλή εργαστηριακή βοήθεια. Επειδή το L.G.V. παρουσιάζεται με ποικίλα συμπτώματα, μερικές φορές δεν είναι εύκολη η διαφορική διάγνωση από άλλα νοσήματα με έλκη των γεννητικών οργάνων και λεμφαδενοπάθεια. Τέτοια νοσήματα είναι η συφιλίδα, όπου στο πρωτοπαθές στάδιο έχουμε έλκος και τοπική λεμφαδενοπάθεια. Οι λεμφαδένες στην συφιλίδα δεν είναι επώδυνοι.



Τουλάχιστον δύο ειδικές ορολογικές δοκιμασίες για την συφιλίδα πρέπει να γίνονται και να επαναλαμβάνονται μετά έξι εβδομάδες. Άλλα νοσήματα από τα οποία πρέπει να γίνει διαφορική διάγνωση είναι ο γεννητικός έρπης και το μαλακό έλκος. Αν και τα έλκη διαφέρουν και εν προκειμένω είναι επώδυνα, η επιβεβαίωση των νοσημάτων αυτών γίνεται με απομόνωση των μικροοργανισμών. Στις μικροβιακές λεμφαδενίτιδες η μόλυνση των βουβωνικών λεμφαδένων μπορεί να προκληθεί από επιπολής φλεγμονές των ιστών των μηρών, των γλουτών, των άκρων ή της περιγεννητικής χώρας. Για το λόγο αυτό, σε κάθε ασθενή με ανεξήγητο λεμφαδενοπάθεια, πρέπει να αποκλείεται η ύπαρξη τέτοιων φλεγμονών.

Εργαστηριακή διάγνωση

α. Δοκιμασία Frei.

Είναι μία δοκιμασία υπερευαισθησίας, που γίνεται για την διάγνωση του L.G.V. Ενίεται ενδοδερμικά 0.1 ml αντιγόνου, που αρχικά ήταν πύο λεμφαδένος ασθενούς με L.G.V., ενώ τώρα είναι ορότυποι του L.G.V. που αναπτύχθηκαν στο λεκιθικό σάκκο εμβρύου όρνιθας. Ως μάρτυρας ενίεται υλικό στο οποίο παρασκευάσθηκε το αντιγόνο. Η ανάγνωση γίνεται μετά από 48 ώρες. Μία σκλήρυνση διαμέτρου 5 mm στην περιοχή της ενδοδερμικής ένεσης, χωρίς αντίδραση στην περιοχή του μάρτυρος, θεωρείται θετικό αποτέλεσμα. Η δοκιμασία γίνεται θετική μέσα σε λίγες εβδομάδες και μπορεί να παραμείνει για μακρό χρονικό διάστημα. Η δοκιμασία δεν είναι ειδική για το L.G.V. και μπορεί να είναι θετική και σε άλλες χλαμυδιακές λοιμώξεις. Οι περισσότεροι κλινικοί έχουν εγκαταλείψει τη δοκιμασία Frei, επειδή η ευαισθησία και ειδικότητα αυτής είναι χαμηλή.



β. Η δοκιμασία σύνδεσης συμπληρώματος (CF).

Η δοκιμασία αυτή χρησιμοποιείται ευρέως. Το αντιγόνο παρασκευάζεται στο λεκιθικό σάκο και είναι αντιγόνο ειδικό της ομάδας. Η CF γίνεται θετική σε 1-2 εβδομάδες από τη λοίμωξη και παραμένει θετική για όλη τη ζωή, εάν δεν γίνει θεραπεία. Ο τίτλος μόνο μετά από θεραπεία πέφτει. Η CF έχει διαγνωστική αξία όταν βρεθεί αύξηση του τίτλου, αλλά στο L.G.V. αυτό συμβαίνει σπάνια. Οι ασθενείς έχουν πολύ υψηλούς τίτλους αντισωμάτων L.G.V. ήδη κατά την πρώτη εξέτασή τους. Ασθενείς με ενεργό L.G.V. συνήθως έχουν τίτλους > 64 (Schachter και Dawson, 1978). Το αντιγόνο που χρησιμοποιείται είναι ειδικό της ομάδας, επομένως δίνει διασταυρούμενες αντιδράσεις με άλλες χλαμυδιακές λοιμώξεις του οφθαλμού ή του γεννητικού συστήματος, αλλά σπάνια οι τίτλοι σε αυτές είναι > 16. Αν και η ανεύρεση ενός υψηλού τίτλου για το L.G.V. με CF δεν είναι απόδειξη τρέχουσας λοίμωξης, είναι αναμφίβολα μία χρήσιμη διαγνωστική βοήθεια και πρέπει πάντοτε να αξιολογείται σε συνδυασμό και με άλλα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα.

γ. Η δοκιμασία του μικροανοσοφθορισμού (micro-IF test).

Είναι μία δοκιμασία στην οποία τα L.G.V. στελέχη αντιδρούν έντονα. Ασθενείς με L.G.V. έχουν υψηλούς micro-IF τίτλους έναντι άλλων οφθαλμικών και οφθαλμογεννητικών στελεχών (Wang και Grayston, 1974) (διασταυρούμενες αντιδράσεις). Γιά το λόγο αυτό η δοκιμασία δεν είναι μεγαλύτερης αξίας από την CF.

δ. Η απομόνωση του αιτίου L.G.V.

Η οριστική διάγνωση γίνεται με την απομόνωση του μικροοργανισμού. Δείγματα από όλες τις μολυσμένες θέσεις μπορεί να εξετασθούν, αλλά το πύο μετά από παρακέντηση είναι το καλύτερο υλικό. Ο εμβολισμός εμβρυοφόρων ωών όρνιθας χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία για πολλά χρόνια. Σήμερα προτιμούνται οι καλλιέργειες κυττάρων για την απομόνωση του L.G.V.



Δ. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΑΠΟ C. TRACHOMATIS

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την διάγνωση του *C. trachomatis* είναι:

- 1) Αναζήτηση του μικροοργανισμού με άμεση εξέταση επιχρισμάτων.
- 2) Ανίχνευση χλαμυδιακού αντιγόνου με ανοσοενζυματική μέθοδο (ΕΙΑ) και με υβριδισμό του DNA.
- 3) Απομόνωση του μικροοργανισμού και
- 4) Ορολογικές μέθοδοι.

1. Συλλογή δειγμάτων

Για την αξιόπιστη ταυτοποίηση του *C. trachomatis* από κλινικά υλικά απαιτείται στενή συνεργασία μεταξύ του κλινικού ιατρού και του μικροβιολογικού εργαστηρίου. Τα δείγματα πρέπει να λαμβάνονται με προσοχή και η μεταφορά στο εργαστήριο να γίνεται υπό κατάλληλες συνθήκες. Ο εργαστηριακός ιατρός πρέπει να διαθέτει μεγάλη τεχνική εμπειρία για τις καλλιέργειες και τις ορολογικές τεχνικές.

Ο χρόνος που θα μεσολαβήσει μεταξύ συλλογής των δειγμάτων και εμβολιασμού αυτών σε καλλιέργειες πρέπει να είναι όσο το δυνατόν μικρότερος. Απαιτείται ειδικό υλικό μεταφοράς για χλαμύδια και συνήθως χρησιμοποιείται το 2SP. Δείγματα για εξέταση λαμβάνονται από:

α) Την ουρήθρα. Η συλλογή των δειγμάτων από την ανδρική ουρήθρα γίνεται με ένα λεπτό συρμάτινο βαμβακοφόρο στυλεό. Αυτός εισάγεται περίπου 4cm μέσα στην ουρήθρα, περιστρέφεται και

αποσύρεται. Το άκρο του στυλεού (περίπου 2cm) κόπτεται και τοποθετείται μέσα σε ειδικό υλικό μεταφοράς για χλαμύδια.

Δείγματα από την γυναικεία ουρήθρα συλλέγονται με τον ίδιο τρόπο εισάγοντας τον στυλεό 1-2cm μέσα στην ουρήθρα. Οι στυλεοί που χρησιμοποιούνται πρέπει να ελέγχονται ώστε να είναι κατάλληλοι και κυρίως όχι τοξικοί για το δείγμα (Mahony και Chernescy, 1985).

β) Τον τράχηλο. Η θέση όπου αναπτύσσονται τα χλαμύδια είναι στο σημείο της ζώνης μετάπτωσης του ενδοτραχηλικού αυλού (squamocolumnar junction). Με την χρησιμοποίηση μητροσκοπίου αποκαλύπτεται ο τράχηλος, καθαρίζεται η περίσσεια της τραχηλικής βλέννης με γάζα, εισάγεται στον ενδοτραχηλικό αυλό βαμβακοφόρος στυλεός ή στυλεός που στο άκρο του φέρει ειδική ψήκτρα, περιστρέφεται και αποσύρεται. Το άκρο του στυλεού κόπτεται και τοποθετείται σε ειδικό υλικό μεταφοράς για χλαμύδια.

γ) Τον οφθαλμό. Το δείγμα για την διάγνωση της επιπεφυκίτιδας από έγκλειστα των νεογνών και ενηλίκων, λαμβάνεται από τον επιπεφυκότα του κατώτερου ταρσικού σωλήνα. Πυώδης έκκριση πρέπει να απομακρύνεται με αποστειρωμένο στυλεό και να εξετάζεται για γονόκοκκο και άλλα παθογόνα μικρόβια. Με ένα στεγνό βαμβακοφόρο στυλεό που εφάπτεται καλά παραλαμβάνεται υλικό από τον κατώτερο ταρσικό επιπεφυκότα. Εφόσον τα έγκλειστα βρίσκονται μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα είναι σημαντικό να παραλαμβάνονται αυτά και όχι το πύον. Ετοιμάζεται ένα παρασκεύασμα επάνω σε αποστειρωμένη αντικειμενοφόρο πλάκα για άμεση μικροσκοπική εξέταση και στην συνέχεια το άκρο κόπτεται και τοποθετείται μέσα σε υλικό μεταφοράς.

δ) Τον πρωκτό. Τα πρωκτικά δείγματα λαμβάνονται χρησιμοποιώντας τους στυλεούς με τους οποίους λαμβάνονται δείγματα από τράχηλο, αφού βέβαια με ένα πρωκτοσκόπιο αποκαλυφθεί ο βλεννογόνο.



ε) Δείγματα ούρων. Δεν είναι κατάλληλα για καλλιέργεια, ακόμη και μετά από φυγοκέντρηση σε υψηλές στροφές για να καθιζήσουν τα κύτταρα που υπάρχουν.

στ) Την αναπνευστική χώρα. Τα καλύτερα ρινοφαρυγγικά δείγματα λαμβάνονται με αναρρόφηση. Εναλλακτικά ένας εύκαμπτος συρμάτινος στυλεός μπορεί να χρησιμοποιηθεί δια μέσου της μύτης (Harrison et al., 1978).

Η μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο πρέπει να γίνεται όσο δυνατό γρηγορότερο. Όταν τα δείγματα για καλλιέργεια πρόκειται να εξετασθούν μέσα σε 24 ώρες, κρατούνται στους $+4^{\circ}\text{C}$ (π.χ. επάνω σε πάγο). Εάν πρακτικώς αυτό δεν είναι δυνατόν, χρησιμοποιείται ένα κατάλληλο κρυοπροστατευτικό υλικό και τα δείγματα φυλάσσονται στους -70°C για μακρύ χρονικό διάστημα (Mahony και Chernesky, 1985). Κατάλληλο υλικό μεταφοράς είναι το φωσφορικό υλικό σουκρόζης 2SP (Gordon et al., 1969, Dunlop et al., 1972). Η βιωσιμότητα του *C. trachomatis* σε διάφορες θερμοκρασίες και διαφορετικό χρονικό διάστημα έχει μελετηθεί από τους Mahony και Chernesky (1985). Βρέθηκε ότι η φύλαξη στους $+4^{\circ}\text{C}$ για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 24 ωρών ελάττωσε αξιοσημείωτα την βιωσιμότητα. Επίσης μία αναλογία 30% των θετικών δειγμάτων δεν αναπτύχθηκε στις καλλιέργειες κυττάρων όταν η φύλαξη έγινε στους 23°C για 24 h. Υλικά μεταφοράς άλλων μικροβίων όπως το Stuart δεν είναι κατάλληλα για διατήρηση των χλαμυδίων. Όλα τα υλικά για την μεταφορά και φύλαξη των χλαμυδίων πρέπει να περιέχουν αντιβιοτικά τα οποία δεν επηρεάζουν την απομόνωση των χλαμυδίων. Τέτοια αντιβιοτικά είναι η στρεπτομυκίνη, η γενταμυκίνη, η βανκομυκίνη και αντιμυκητιακά όπως η νυστατίνη και η αμφοτερικίνη.

Η χορήγηση αντιβιοτικών στους ασθενείς πριν από την συλλογή δειγμάτων επηρεάζει την απομόνωση. Προφανώς, η χορήγηση τετρακυκλινών και ερυθρομυκίνης ελαττώνει πολύ την πιθανότητα απομόνωσης χλαμυδίων, αλλά και η χορήγηση αντιβιοτικών που δεν επηρεάζουν τα χλαμύδια in vivo μπορεί να ελαττώσουν την συχνότητα απομόνωσης. Η καλλιέργεια μπορεί να είναι αρνητική σε ασθενείς που πριν από την συλλογή του δείγματος έκαναν θεραπεία με πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες (Evans και Woodland, 1983). Επομένως, είναι σημαντικό να γνωρίζει το εργαστήριο την προηγηθείσα θεραπεία με αντιβιοτικά, όταν ένα δείγμα στέλλεται για εξέταση. Στις περιπτώσεις που ο ασθενής έκανε θεραπεία, πιθανόν να χρειαστεί ανακαλλιέργεια, πριν μια καλλιέργεια χαρακτηριστεί αρνητική. Συνήθως, συνιστάται να μην χορηγούνται αντιβιοτικά 2-3 εβδομάδες πριν από την συλλογή του δείγματος για καλλιέργεια, εφόσον βέβαια αυτό είναι δυνατόν (Evans και Woodland, 1983).

2. Αναζήτηση χλαμυδίων με άμεση εξέταση επιχρισμάτων

Η άμεση ανεύρεση χλαμυδίων σε κλινικά δείγματα μέχρι να επιτευχθεί η απομόνωση του *C. trachomatis* σε καλλιέργεια κυττάρων, ήταν η μόνη μέθοδος ταυτοποίησης του μικροοργανισμού. Αργότερα, επειδή η ευαισθησία της μεθόδου ήταν χαμηλή, κυρίως στα δείγματα του γεννητικού συστήματος, τα εργαστήρια που είχαν τις δυνατότητες άρχισαν να χρησιμοποιούν για την διάγνωση την απομόνωση σε καλλιέργεια κυττάρων.

Η μέθοδος χρησιμοποιείται κυρίως στις οφθαλμικές λοιμώξεις νεογνών, όπου υπάρχουν πολύ μολυσμένα κύτταρα. Η εξέταση δειγμάτων του γεννητικού συστήματος ήταν περιορισμένη, μέχρι την εποχή που άρχισαν να χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά αντισώματα για



την ανίχνευση όχι μόνο των εγκλείστων, αλλά και των στοιχειωδών σωματίων του *C. trachomatis*. Γενικά η συλλογή των επιθηλιακών κυττάρων σε καλή κατάσταση είναι δύσκολη γιατί τα δείγματα περιέχουν κατεστραμμένα κύτταρα που σπάνια περιέχουν έγκλειστα.

Τα συλλεχθέντα υλικά απλώνονται ομοιόμορφα επάνω σε μια καθαρή αντικειμενοφόρο πλάκα. Τα επιχρίσματα μονιμοποιούνται όσο το δυνατόν γρηγορότερα μετά την συλλογή, αφού προηγουμένως έχουν στεγνώσει στον αέρα. Η μέθοδος μονιμοποίησης εξαρτάται από την μέθοδο χρώσης. Απόλυτος μεθανόλη χρησιμοποιείται όταν πρόκειται να εφαρμοσθεί η χρώση Giemsa ενώ η ακετόνη συνιστάται για τις ανοσοχημικές χρώσεις. Επιχρίσματα για ανοσοχημική χρώση μπορεί να φυλαχθούν στους -20°C εάν δεν πρόκειται να χρωματισθούν αμέσως.

Αρκετές μέθοδοι χρώσης χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση των χλαμυδιακών εγκλείστων στα επιχρίσματα. Η Giemsa, το ιώδιο (Lugol) και οι χρώσεις ανοφοθρισμού είναι κυρίως αυτές που χρησιμοποιούνται, όπως και η χρώση με υπεροξειδάση.

Κατά την εξέταση των επιχρισμάτων στο μικροσκόπιο διερχομένου φωτός, μετά χρώση Giemsa οι πυρήνες των κυττάρων φαίνονται κόκκινοι, το κυτταρόπλασμα μπλε, ενώ το έγκλειστο που συνήθως έχει ημισεληνοειδές σχήμα και εφάπτεται του πυρήνα, αποτελείται από μπλε δικτυωτά σωματίδια, πορφυρά στοιχειώδη ή ένα μίγμα και των δύο, ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης στο οποίο βρίσκεται. Υπάρχουν αρκετά ψευδώς θετικά αποτελέσματα επειδή μπορεί κοκκία χρωστικής, πυρηνική ουσία, ηωσινόφιλα κοκκία και μικρόβια να εκληφθούν ως χλαμυδιακά έγκλειστα.

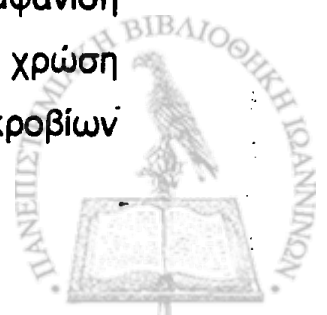
Η χρώση με ιώδιο είναι γρηγορότερη και απλούστερη από την Giemsa και την χρώση του ανοσοφθορισμού, αλλά είναι λιγότερο ευαίσθητη. Η μήτρα του γλυκογόνου που υπάρχει στο έγκλειστο

χρωματίζεται, το έγκλειστο φαίνεται καφέ και τα κύτταρα ανοιχτά κίτρινα. Η παρατήρηση γίνεται στο μικροσκόπιο διερχομένου φωτός. Τα παρασκευάσματα που είναι χρωματισμένα με ιώδιο μπορεί να αποχρωματισθούν και να χρωματισθούν με Giemsa. Η μέθοδος δεν πρέπει να χρησιμοποιείται για χρώση δειγμάτων του γεννητικού συστήματος, επειδή συχνά περιέχουν διάφορες δεξτράνες που χρωματίζονται με ιώδιο.

Η χρώση των εγκλείστων με τις μεθόδους του ανοσοφθορισμού (IF) είναι περισσότερο ευαίσθητη από την χρώση Giemsa και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως. Μπορεί να εφαρμοσθεί ο άμεσος ή έμμεσος ανοσοφθορισμός. Η μέθοδος του άμεσου ανοσοφθορισμού είναι συντομότερη, αλλά χρειάζεται μεγαλύτερη ποσότητα ειδικού αντιχλαμυδιακού αντισώματος. Η μέθοδος του έμμεσου ανοσοφθορισμού είναι καλύτερη για γενική χρήση, διότι χρησιμοποιούνται σεσημασμένες ειδικές του είδους ανοσοσφαιρίνες που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Επίσης είναι πιο ευαίσθητη από την άμεσο ανοσοφθορισμό όταν εξετάζονται δείγματα από ασθενείς με τράχωμα ή λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος.

Υπεράνοσος ορός, που παρασκευάζεται σε ζώο έναντι ενός οροτύπου του LGV είναι κατάλληλος για γενική χρήση. Ανθρώπειοι αντιχλαμυδιακοί οροί δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται στον έμμεσο ανοσοφθορισμό για εξέταση δειγμάτων ανθρώπου, επειδή η φθορίζουσα ανοσοσφαιρίνη μπορεί να χρωματίσει οποιαδήποτε ανθρώπειο σφαιρίνη που υπάρχει στο δείγμα.

Τα έγκλειστα με τις χρώσεις ανοσοφθορισμού βάφονται πράσινα. Για να χαρακτηριστεί ένα δείγμα ως θετικό, πρέπει να έχει μία πράσινη μάζα μέσα στο κυτταρόπλασμα δίπλα στον πυρήνα, παρόμοια σε εμφάνιση με τα έγκλειστα που έχουν χρωματισθεί με Giemsa. Μη ειδική χρώση πολυμορφοπύρηνων, κερατοποιημένων κυττάρων και μικροβίων



ενδέχεται να εμφανισθεί. Αντιθετική χρώση όπως το Evans blue ελαττώνει τον μη ειδικό φθορισμό.

Η χρώση με υπεροξειδάση έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση των χλαμυδιακών εγκλείστων. Η αντίθεση των χρωματισμένων εγκλείστων και του υποστρώματος δεν είναι μεγάλη, όπως στον ανοσοφθορισμό, αλλά τα παρασκευάσματα μπορεί να διατηρηθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα και να εξετασθούν με κοινό μικροσκόπιο. Η μέθοδος χρησιμοποιείται από ορισμένα εργαστήρια ακόμη και σήμερα, δεν έχει όμως προτυποποιηθεί.

Τα τελευταία χρόνια, μετά την παρασκευή των μονοκλωνικών αντισωμάτων, είναι δυνατή η εφαρμογή πολύ ειδικών ανοσοκυταροχημικών χρώσεων των χλαμυδίων. Τα αντισώματα αυτά παρουσιάζουν υψηλή ειδικότητα έναντι της επικρατούσης πρωτεΐνης της εξωτερικής μεμβράνης και ανιχνεύουν κυρίως εξωκυτάρια EBs σε άμεσα παρασκευάσματα κλινικών δειγμάτων. Οι Tam και συνεργάτες (1982) και πρώτοι ανακοίνωσαν την χρησιμοποίηση ειδικών του είδους μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι της επικρατούσης πρωτεΐνης της εξωτερικής μεμβράνης. υποστήριξαν ότι η αναζήτηση ολόκληρου του εγκλείστου σε άμεσα επιχρίσματα δεν ήταν η σωστή προσέγγιση και τα αντισώματα που χρησιμοποιούσαν προηγουμένως δεν ήταν τόσο ευαίσθητα και ανίχνευαν μόνο μεγάλα έγκλειστα. Μετά το 1982, αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν από πολλούς ερευνητές, που χρησιμοποίησαν πολυκλωνικά ή μονοκλωνικά αντισώματα που κυκλοφορούσαν στο εμπόριο. Οι περισσότεροι συνιστούν ότι 10 ή περισσότερα EBs πρέπει να ανευρεθούν στο επίχρισμα για να δοθεί ένα αποτέλεσμα ως θετικό. Έχουν γίνει πολλές εργασίες με μονοκλωνικά φθορίζοντα αντισώματα συγκριτικά με άλλες μεθόδους διάγνωσης. Οι Tam και συνεργάτες (1984) βρήκαν 93% ευαισθησία και 96% ειδικότητα του IF σε σύγκριση με τις καλλιέργειες και την χρώση με ιώδιο όταν



εξέτασαν πληθυσμό υψηλού κινδύνου. Οι Thomas και συνεργάτες (1984) συνέκριναν τον IF σε άμεσα επιχρίσματα με τον IF ή την Giemsa σε καλλιέργειες κυττάρων. Η συμφωνία που βρέθηκε μεταξύ των μεθόδων ήταν 100% σε γυναίκες που είχαν σεξουαλική επαφή με άνδρες με N.G.U., 99% σε άνδρες με N.G.U. και 94% σε άνδρες με βλεννόρροια. Οι Vyeda και συνεργάτες (1984) μελέτησαν πληθυσμό χαμηλού κινδύνου (ποσοστό απομόνωσης 6%) και ανακοίνωσαν 96,3% ευαισθησία και 99,5% ειδικότητα του IF έναντι των καλλιεργειών σε κύτταρα. Αυτοί θεωρούσαν θετικά με IF δείγματα με 2 ή περισσότερα EBs. Η Φραντζίδου και συν. (1990) σε πληθυσμό χαμηλού κινδύνου (ποσοστό απομόνωσης 5,2%), βρέθηκε 80% ευαισθησία και 97% ειδικότητα του IF έναντι των κυτταροκαλλιεργειών. Μόνο δείγματα > 10 EBs θεωρήθηκαν θετικά με τον IF.

Το αποτέλεσμα του IF επηρεάζεται όπως βέβαια και της κυτταροκαλλιέργειας ή της Elisa από τη λήψη καλού δείγματος. Περισσότερα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα με τον IF λαμβάνονται στις περιπτώσεις που ο αριθμός των EBs είναι μικρός (< 10 EB ανά επίχρισμα). Η μέθοδος μπορεί να εφαρμοσθεί σε δείγματα που λαμβάνονται από τον οφθαλμό, τον τράχηλο της μήτρας, την ουρήθρα και τον πρωκτό. Αν και μερικοί ερευνητές εξέτασαν δείγματα από άλλες περιοχές, π.χ. έκκριμα ωτός (Banks et al., 1985), ακόμη δεν έχει καθιερωθεί η εφαρμογή της μεθόδου για όλα τα είδη δειγμάτων. Τα χρωματισμένα EBs σε μεγέθυνση X 400 εμφανίζονται σαν σωματίδια μεγέθους κεφαλής καρφίτσας, με φωτεινό φθορισμό πράσινου μήλου. Σε μεγαλύτερη μεγέθυνση φαίνονται σαν μικροί δίσκοι με ομαλή περιφέρεια. Άλλα σωματίδια με διαφορετικό μέγεθος και ακανόνιστη περιφέρεια, που φθορίζουν κίτρινα ή άσπρα ή κόκκινα, θεωρούνται τεχνικά λάθη.

Αν και τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ ειδικά, υπάρχουν ορισμένα μικρόβια τα οποία διαθέτουν Fc υποδοχείς και μπορούν να



συνδέσουν ανοσοσφαιρίνες που πιθανόν υπάρχουν στο δείγμα. Τέτοιοι υποδοχείς έχουν βρεθεί στους στρεπτόκοκκους. Επίσης το 95% του χρυσίζοντα σταφυλόκοκκου περιέχει πρωτεΐνη A, η οποία συνδέεται με τις ανοσοσφαιρίνες με ένα μη ανοσομηχανισμό (Krech et al., 1985). Στις περιπτώσεις που το κλινικό δείγμα περιέχει σταφυλόκοκκους, αυτοί μπορεί να φθορίζουν, και σε μικρή μεγέθυνση είναι δύσκολο να διακριθούν από τα χλαμύδια. Σε μεγαλύτερες μεγεθύνσεις μπορούν να διακριθούν, από την τάση που έχουν όλα τα μικρόβια να χρωματίζεται η περιφέρειά τους και όχι ολόκληρη επιφάνεια, όπως συμβαίνει στις EBs. Οι D' Auja και Allia (1986) συνιστούν επώαση των επιχρισμάτων για 30' με αρνητικό για χλαμύδια ορό, για να αποφευχθεί η μη ειδική σύνδεση του μονοκλωνικού αντισώματος με την πρωτεΐνη A.

Γενικώς, με τη χρησιμοποίηση των σεσημασμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων, ο αριθμός των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων είναι μικρός και ένας έμπειρος παρατηρητής διακρίνει τα ψευδώς θετικά από τα αληθή EBs.

Η μέθοδος είναι απλή, ταχεία και ολιγότερο δαπανηρή από τις καλλιέργειες κυττάρων και μπορεί να εφαρμοσθεί σ' όλα τα εργαστήρια που διαθέτουν μικροσκόπιο φθορισμού. Επειδή με την μέθοδο αυτή ανιχνεύεται χλαμυδιακό αντιγόνο, παρακάμπτεται το πρόβλημα της ειδικής μεταφοράς ζωντανών μικροοργανισμών, που είναι απαραίτητη για τα δείγματα που καλλιεργούνται σε κύτταρα για απομόνωση του *C. trachomatis*. Η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση δειγμάτων που στέλλονται από περιφερικά σε κεντρικά εργαστήρια. Όταν οι Williams και συνεργάτες (1985) εξέτασαν δείγματα που έφθασαν στο κεντρικό εργαστήριο εντός 3-16 ημερών, βρήκαν ότι μόνο 2 από 35 θετικά με IF αναπτύχθηκαν σε καλλιέργειες κυττάρων.

3. Άμεση ανίχνευση χλαμυδιακού αντιγόνου με ανοσοενζυματική μέθοδο (Enzyme Immuno-Assay, EIA) και υβριδισμό του DNA.

Η EIA σε σύγκριση με τον IF, έχει το πλεονέκτημα ότι δεν είναι μέθοδος υποκειμενική και μπορεί εύκολα να αυτοματοποιηθεί. Η μέθοδος για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε από τους Caldwell και Schachter (1983). Με αυτή δυνατόν να ανιχνεύεται χλαμυδιακό αντιγόνο σε τραχηλικά ή ουρηθρικά δείγματα, με τη χρησιμοποίηση ενός συνδεδεμένου με ένζυμο αντιχλαμυδιακού αντισώματος και του ανάλογου υποστρώματος του ενζύμου.

Σήμερα κυκλοφορούν στο εμπόριο αντιδραστήρια πολλών οίκων. Τα αντιχλαμυδιακά αντισώματα μπορεί να είναι πολυκλωνικά ή μονοκλωνικά.

Το κλινικό δείγμα μετά τη συλλογή τοποθετείται σε ειδικό υλικό μεταφοράς. Τα δείγματα μπορούν να φυλαχθούν για 2-7 ημέρες στους 2-8^o C και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στους -20^o C.

Η αρχή της μεθόδου είναι η ίδια, ανεξαρτήτως του είδους των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται. Τα επεξεργασθέντα δείγματα τοποθετούνται σε βυθίσματα πλακών μικροτιτλοποίησης όπου, μετά ορισμένη επώαση, συνήθως στους 37^o C, γίνεται η προσρόφηση του *C. trachomatis* εάν βέβαια υπάρχει στο δείγμα. Στη συνέχεια προστίθενται αντισώματα συνδεδεμένα με ένζυμο και ακολουθεί μία άλλη επώαση για να συνδεθούν με το προσροφημένο αντιγόνο. Τα μη συνδεδεμένα αντισώματα απομακρύνονται με έκπλυση και στη συνέχεια προστίθεται το υπόστρωμα του ενζύμου. Οι περισσότεροι ερευνητές χρησιμοποιούν ως ένζυμο την *radish peroxidase*. Κατά την επώαση που ακολουθεί αναπτύσσεται ένα χρώμα που η έντασή του είναι ανάλογη της ποσότητας του αντιγόνου που έχει προσροφηθεί στη στερεά επιφάνεια.

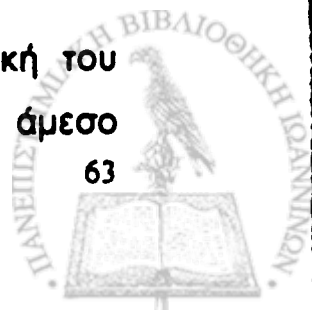


Η ανάγνωση γίνεται σε φωτόμετρα. Δείγματα με οπτική πυκνότητα ίση ή μικρότερη από αυτή του αρνητικού μάρτυρος θεωρούνται αρνητικά.

Έχουν γίνει πολλές συγκρίσεις της ΕΙΑ και των άλλων μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την αναζήτηση ή απομόνωση του *C. trachomatis*. Οι Hipp και συνεργάτες (1987) συνέκριναν το Chlamydiazyme του εμπορικού οίκου Abbott και το Microtrak της Syva Co. με την ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε καλλιέργειες σε ουρογεννητικά δείγματα ανδρών και γυναικών. Η ευαισθησία και ειδικότητα για το Microtrak ήταν 73% και 98% και οι αντίστοιχες τιμές για το Chlamydiazyme 83% και 98%. Οι ερευνητές αυτοί συμπεραίνουν ότι πρέπει ορισμένα αποτελέσματα να δίδονται ως ύποπτα (για το Microtrak EBs < 10 και για Chlamydiazyme προσρόφηση < 0.4). Εάν αυτά τα κριτήρια ληφθούν υπόψη, η ευαισθησία του Chlamydiazyme πέφτει σημαντικά στο 64%. Οι Jones και συνεργάτες (1984) ανακοίνωσαν ειδικότητα 98% και ευαισθησία 85% για ΕΙΑ σε σύγκριση με ένα μόνο εμβολιασμό κυτταροκαλλιέργειας.

Η διαγνωστική αξία ενός αρνητικού αποτελέσματος (Negative predictive value) με ΕΙΑ είναι συνήθως υψηλή, καθώς η πλειονότητα των εξεταζομένων, ανεξαρτήτως του αν ανήκουν σε ομάδες υψηλού ή χαμηλού κινδύνου, δεν έχουν την νόσο. Όμως η διαγνωστική αξία ενός θετικού αποτελέσματος (Positive predictive value) ποικίλλει ανάλογα με την συχνότητα της νόσου. Για τον λόγο αυτό συνιστάται η αναζήτηση του *C. trachomatis* με ΕΙΑ μόνο σε πληθυσμό που ανήκει σε ομάδα υψηλού κινδύνου γιατί άλλως η διαγνωστική αξία της μεθόδου είναι μικρή (WHO/VDT/89). Η μέθοδος είναι κατάλληλη για δείγματα από το γεννητικό σύστημα και δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση δειγμάτων από τον φάρυγγα και τον πρωκτό.

Υβριδισμός του DNA. Αρχικές μελέτες έδειξαν ότι η τεχνική του υβριδισμού του DNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την άμεσο



αναζήτηση του χλαμυδιακού αντιγόνου. Οι Hygla και συνεργάτες (1985) περιέγραψαν μια κατάλληλη μέθοδο υβριδισμού για την αναζήτηση του *C. trachomatis*, υπήρχαν όμως προβλήματα με την ευαισθησία της. Οι Le Bar et al., (1989) συνέκριναν τη χρησιμοποίηση των γενετικών ανιχνευτών (DNA probes) με την ΕΙΑ και καλλιέργειες κυττάρων για την αναζήτηση του *C. trachomatis* και βρήκαν ότι η μέθοδος των γενετικών ανιχνευτών έδιδε αποτελέσματα συγκρίσιμα με αυτά του ενός εμβολιασμού σε καλλιέργειες κυττάρων σε πληθυσμό με σχετικά υψηλή συχνότητα της νόσου.

4. Καλλιέργεια - Απομόνωση *C. trachomatis*.

Για πρακτικούς σκοπούς στα εργαστήρια χρησιμοποιούνται δύο μέθοδοι απομόνωσης των χλαμυδίων. Η μία τεχνική είναι η χρησιμοποίηση του λεκιθικού σάκου εμβρυοφόρων ωών όρνιθας και η άλλη η απομόνωση σε καλλιέργειες κυττάρων. Η τελευταία τεχνική έχει σχεδόν αντικαταστήσει την πρώτη στην καθημερινή πράξη.

Ο ενδοκρανιακός, ενδορρινικός ή ενδοπεριτοναϊκός εμβολιασμός ποντικών που χρησιμοποιείται για την απομόνωση του *C. psittaci* και μερικές φορές σαν πειραματικό μοντέλο για το *C. trachomatis*, δεν χρησιμοποιείται στην απομόνωση του *C. trachomatis* στην καθημερινή πράξη.

Εμβρυοφόρα ωά όρνιθας

Η πρώτη τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για την απομόνωση των χλαμυδίων ήταν ο εμβολιασμός σε λεκιθικό σάκο εμβρύων όρνιθας. Σήμερα, η τεχνική έχει μεν καθιερωθεί, έχει όμως πολλά μειονεκτήματα, τα περισσότερα από τα οποία οφείλονται στις επιμολύνσεις. Οφθαλμικά και γεννητικά στελέχη συχνά απομονώνονται μαζί με άλλα σαπροφυτικά



ή δυνητικά παθογόνα μικρόβια. Η χρησιμοποίηση αντιμικροβιακών παραγόντων πρέπει να γίνεται με προσοχή. Η πενικιλίνη εμποδίζει την ανάπτυξη των χλαμυδίων, ενώ οι αμινογλυκοσίδες δεν εμποδίζουν τις επιμολύνσεις των ωών π.χ. με στρεπτόκοκκο.

Η καλύτερη απομόνωση γίνεται όταν χρησιμοποιούνται εμβρυοφόρα ωά 7 ημερών, από πηγή ελεύθερη αντιβιοτικών και η επώαση γίνεται στους 35^o C. Εποχιακές αλλαγές στην ευαισθησία μπορεί να παρουσιασθούν. Τα ωά εξετάζονται καθημερινώς επί 13 ημέρες στο ωοσκόπιο και απορρίπτονται αυτά των οποίων τα έμβρυα θνήσκουν, τις πρώτες τρεις ημέρες μετά τον εμβολιασμό.

Ο λεκιθικός σάκος των ωών των οποίων νεκρώνονται μετά την 3η ημέρα συλλέγεται και γίνονται παρασκευάσματα σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Χρωματίζονται με την μέθοδο Gimenez ή Macchiavello και εξετάζονται για EBs.

Εάν τα έμβρυα είναι ζωντανά μέχρι και την 13η ημέρα μετά τον εμβολιασμό, τα ωά ψύχονται, συλλέγεται η λέκιθος και μετά ορισμένη έπεξεργασία επανεμβολιάζονται σε νέα ωά 7 ημερών.

Η ευαισθησία της μεθόδου είναι χαμηλή και στις περισσότερες περιπτώσεις απαιτούνται διαδοχικοί τυφλοί εμβολιασμοί οπότε απαιτείται χρόνος και επισυμβαίνουν επιμολύνσεις.

Αν και η μέθοδος σήμερα έχει αντικατασταθεί με την απομόνωση σε καλλιέργειες κυττάρων, εντούτοις χρησιμοποιείται ακόμη για την παρασκευή αντιγόνων υψηλού τίτλου, για τις ορολογικές δοκιμασίες.

Καλλιέργειες κυττάρων

Η μέθοδος που συνιστάται σήμερα για την πρώτη απομόνωση του *C. trachomatis*, είναι τεχνική που χρησιμοποιεί καλλιέργειες κυττάρων.

Με την καλλιέργεια σε λεκιθικό σάκο δεν ήταν δυνατή η απομόνωση των χλαμυδίων σε μεγάλη κλίμακα επειδή η μέθοδος είχε μειονεκτήματα. Για τον λόγο αυτό επιχειρήθηκε η απομόνωση σε κατάλληλες καλλιέργειες κυττάρων. Αρχικά πειράματα έδειξαν ότι τα χλαμύδια που αναπτύσσονται σε ωά μπορεί να αναπτυχθούν σε κατάλληλες κυτταρικές σειρές. Το 1965 οι Gordon και Quan κατόρθωσαν να απομονώσουν σε καλλιέργειες κυττάρων το *C. trachomatis* από κλινικά δείγματα. Μία σύγκριση των δύο μεθόδων από τους Gordon και συνεργάτες (1969), έδειξε ότι η απομόνωση σε καλλιέργειες κυττάρων υπερτερεί της απομόνωσης σε λεκιθικό σάκο. Στην εργασία αυτή το *C. trachomatis* απομονώθηκε σε καλλιέργειες κυττάρων σε αναλογία 41% ενώ στον λεκιθικό σάκο η αναλογία ήταν 8%.

Ανεξάρτητα από την κυτταρική σειρά που χρησιμοποιείται, η τεχνική απομόνωσης είναι βασικά η ίδια με αυτή που περιέγραψαν πρώτοι οι Gordon και Quan (1965) με ορισμένες βελτιώσεις που έγιναν στην συνέχεια. Η μέθοδος εκτελείται με φυγοκέντρηση του κλινικού δείγματος επάνω σε μία μονοστιβάδα κυττάρων, τα οποία βρίσκονται σε στατική φάση και δεν διαιρούνται. Αυτό επιτυγχάνεται με την έκθεση των κυττάρων σε ακτινοβολία ή την προσθήκη σ' αυτά κυτταροτοξικών ουσιών που ελαττώνουν τον μεταβολισμό τους. Τα κύτταρα δεν μπορούν να διαιρεθούν ή να συνθέσουν μακρομόρια. Η καλλιέργεια των κυττάρων γίνεται επάνω σε μία καλυπτρίδα η οποία τοποθετείται μέσα σ' ένα σωληνάριο με επίπεδο πυθμένα. Η φυγοκέντρηση του εμβολιάσματος επάνω στα κύτταρα αυξάνει την ικανότητα εισόδου των στοιχειωδών σωματίων μέσα στο κύτταρο ξενιστή, επειδή μ' αυτήν υπερκάμπτεται το αρνητικό ηλεκτρικό φορτίο της επιφάνειας των κυττάρων και των στοιχειωδών σωματίων που δεν επιτρέπει την είσοδο των μικροβίων στο κύτταρο. Ένα πολυκατιόν ή διεθυλ-αμινοεθυλοδεξτράνη (DEAE dextran) επίσης αυξάνει την ικανότητα εισόδου EBs



στα κύτταρα ξενιστές (Rota και Nichols, 1971). Μετά την φυγοκέντρωση τα εμβολιασθέντα κύτταρα επωάζονται στους 35-37^o C για 24-72 ώρες, ανάλογα με την μέθοδο χρώσης που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί.

Σήμερα η καλλιέργεια του *C. trachomatis* γίνεται συνήθως σε κύτταρα McCoy, HeLa-229 ή BHK (Baby Hamster Kidney) κυττάρων. Όμως και άλλες κυτταρικές σειρές έχουν χρησιμοποιηθεί για την καλλιέργεια του *C. trachomatis* όπως αμνιακά κύτταρα ανθρώπου (HA), πρωτογενή κύτταρα θύμου, κύτταρα νεφρών πράσινου πιθήκου (BGM) και άλλα. Οι Croy, Kuo και Wang (1975) συνέκριναν την ευαισθησία ένδεκα διαφορετικών σειρών στο *C. trachomatis*. Σε όλες τις σειρές είχε προστεθεί DEAE-dextran. Οι ερευνητές αυτοί ανακοίνωσαν ότι η σειρά HeLa 229 ήταν η πιο ευαίσθητη για τους ορότυπους A-C του *C. trachomatis*. Έχουν γίνει και άλλες συγκρίσεις, αλλά μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν απόλυτα ικανοποιητικά αποτελέσματα για τις ποικίλες κυτταρικές σειρές, επειδή η σύγκριση έγινε με διαφορετικές συνθήκες. Τα κύτταρα McCoy είναι αυτά που χρησιμοποιούνται στα περισσότερα εργαστήρια. Αρχικά τα McCoy κύτταρα ήταν ινοβλάστες ανθρώπου από τους αρθρικούς υμένες. Σε κάποιο άγνωστο χρόνο τα κύτταρα αυτά πιθανόν να επιμολύνθηκαν από μία καρκινική σειρά ποντικού, την L-929 και έκτοτε δεν μπορούν να διακριθούν από αυτά αντιγονικώς και καρυοτυπικώς (Blyth και Taverne, 1974).

Η εκλογή της μεθόδου που θα χρησιμοποιηθεί για να ελαττωθεί ο μεταβολισμός των ευκαρυωτικών κυττάρων ώστε να αναπτυχθεί το προκαρυωτικό χλαμύδιο, είναι θέμα προσωπικής εκτίμησης. Οι Gordon και Quan (1965) χρησιμοποίησαν γ-ακτινοβολία, είναι όμως και άλλες πηγές ακτινοβολίας κατάλληλες (π.χ. β-ακτινοβολία ή δέσμη ηλεκτρονίων). Το μειονέκτημα της μεθόδου είναι η δυσκολία να έχεις πάντοτε μία σταθερή πηγή ακτινοβολίας. Αυτό το μειονέκτημα έχει



αποφευχθεί με την χρήση διαφόρων κυτταροτοξικών ουσιών που ελαττώνουν τον μεταβολισμό. Οι Wentworth και Alexander (1974) επεξεργάσθηκαν τα κύτταρα με 5-iodo-2-deoxy-uridine (IU DR). Η μέθοδος απλοποιήθηκε από τους Reeve, Owen και Oriel (1975). Η IU DR είναι ένα ανάλογο της θυμιδίνης, που σταματά την σύνθεση του DNA και έτσι εμποδίζει τα κύτταρα να διαιρεθούν. Τον ίδιο χρόνο οι Sompolinsky και Richmond (1974) χρησιμοποίησαν την κυτταροθαλασίνη Β (μία ουσία που αναστέλλει την διαίρεση του κυτταροπλάσματος) στα κύτταρα McCoy. Πιο πρόσφατα χρησιμοποιήθηκε η κυκλοεξιμίδη (μία ουσία που ελαττώνει τον μεταβολισμό και την αναπαραγωγή του ευκαρυωτικού κυττάρου) (Ripa και Mardh, 1977). Το πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι η ουσία προστίθεται μετά τον εμβολιασμό των κυττάρων. Εκείνο που είναι εμφανές, είναι η ανάγκη να βρεθεί μία σειρά που είναι κατάλληλη για απομόνωση χωρίς καμμία ειδική προεργασία. Οι Blyth και Taverne (1974) βρήκαν περίπου την ίδια ευαισθησία για μη ακτινοβοληθέντα ή επεξεργασθέντα ΒΗΚ-21 κύτταρα, με ακτινοβοληθέντα McCoy κύτταρα. Οι Hobson και συνεργάτες (1974) ανακοίνωσαν ότι ακτινοβοληθέντα και μη επεξεργασθέντα McCoy κύτταρα ήταν τόσο ευαίσθητα όπως και άλλες κυτταρικές σειρές. Αυτό το εύρημα όμως δεν μπόρεσαν να το επιβεβαιώσουν άλλοι εργαστηριακοί, ίσως επειδή τα έγκλειστα στα μη ακτινοβοληθέντα ή επεξεργασθέντα κύτταρα ήταν μικρότερα και απαιτούσαν μεγαλύτερη εμπειρία για την ανεύρεσή τους από ότι στα επεξεργασθέντα κύτταρα.

Οι ορότυποι του LGV μπορούν να αναπτυχθούν σε κύτταρα L-929, τα οποία δεν έχουν εκτεθεί σε ακτινοβολία ή στην δράση διαφόρων κυτταροτοξικών ουσιών. Επίσης δεν είναι απαραίτητη η φυγοκέντρηση του δείγματος.



Η απομόνωση μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας πλάκες μικροτιτλοποίησης από πολυστερένιο (McComb και Ruzniak, 1974). Η μέθοδος αυτή η οποία συνήθως γίνεται για λόγους οικονομικούς, έχει το μειονέκτημα· ότι μπορεί να επιμολυνθούν τα αρνητικά βυθίσματα. Επίσης, η αναλογία απομόνωσης είναι χαμηλότερη όταν χρησιμοποιούνται αυτές οι πλάκες αντί των σωληναρίων με επίπεδο πυθμένα.

Εκτός όμως από τον τύπο των κυττάρων που χρησιμοποιείται και την τεχνική συλλογής του δείγματος, και άλλοι παράγοντες επηρεάζουν την απομόνωση των χλαμυδίων, όπως τα συστατικά του θρεπτικού υλικού, η δύναμη φυγοκέντρησης, ο όγκος του εμβολιάσματος και η πυκνότητα των κυττάρων.

Η προσθήκη γλυκόζης στο βασικό θρεπτικό υλικό καλλιέργειας είναι απαραίτητη. Ο τύπος του ορού του θρεπτικού υλικού μπορεί να επηρεάσει τον αριθμό και τον τύπο των εγκλείστων. Το άριστο pH του υλικού καλλιέργειας για το *C. trachomatis* είναι το pH 7. Αποκλίσεις μεγαλύτερες από 0.4 pH είναι δυνατόν να ελαττώσουν τον αριθμό των αναζητούμενων εγκλείστων (Johnson και Hobson, 1976).

Η καλύτερη ταχύτητα φυγοκέντρησης του δείγματος για την απομόνωση και τον αριθμό των εγκλείστων είναι 15000 g (Dargougar et al., 1974), αλλά για την καθημερινή πράξη συνιστάται ταχύτητα 3000 g (Reeve et al., 1975). Όταν μετά τον εμβολιασμό γίνεται φυγοκέντρηση έχει βρεθεί ότι ο αριθμός των εγκλείστων είναι ανεξάρτητος από τον όγκο του εμβολιάσματος.

Η θερμοκρασία κατά την διάρκεια της φυγοκέντρησης και της επώασης είναι σημαντική. Οι Rota και Nichols (1973), βρήκαν μεγαλύτερο αριθμό εγκλείστων όταν η επώαση της εμβολιασμένης μονοστιβάδας γίνεται στους 35° C για 48 ώρες.

Ο Richmond (1976) υποστήριξε ότι η πυκνότητα των κυττάρων που χρησιμοποιούνται είναι σημαντική. Όταν χρησιμοποιείται μεγάλη πυκνότητα κυττάρων, αυτά παραλαμβάνουν συστατικά για τα οποία υπάρχει συναγωνισμός με το παράσιτο. Όταν τα κύτταρα βρίσκονται σε μία στατική φάση και δεν συνθέτουν μακρομόρια, βασικά συστατικά υπάρχουν σε περίσσεια και είναι διαθέσιμα για το *C. trachomatis*. Επομένως, μία χαμηλή πυκνότητα μη επεξεργασθέντων κυττάρων βοηθά στην ανάπτυξη του μικροοργανισμού.

Τρεις τεχνικές χρώσης έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανεύρεση των χλαμυδιακών εγκλείστων μέσα στη μονοστιβάδα των κυττάρων. Αυτές είναι τυπικές ιστοχημικές χρώσεις, ανοσοκυτταροχημικές χρώσεις και χρώσεις φθορισμού για την ανίχνευση των πυρηνικών οξέων.

Οι ιστοχημικές χρώσεις είναι οι πιο καθιερωμένες και οι πιο εύκολες για την εξέταση μεγάλου αριθμού δειγμάτων στην καθημερινή πράξη. Η χρώση Giemsa είναι χρήσιμη για την ανίχνευση των εγκλείστων του *C. trachomatis*, και όταν η παρατήρηση γίνεται σε μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου, τα ώριμα έγκλειστα "αυτοφθορίζουν" ένα πρασινοκίτρινο χρώμα μήλου και αναγνωρίζονται εύκολα από έμπειρο παρατηρητή. Όταν η παρατήρηση γίνεται σε μικροσκόπιο διερχομένου φωτός, τα έγκλειστα του *C. trachomatis* φαίνονται σαν συμπαγείς μάζες που περιβάλλονται από μεμβράνη. Μέσα στο έγκλειστο τα RBs χρωματίζονται μπλε και τα EBs ροζ. Εντούτοις, η ανεύρεση εγκλείστων είναι πιο δύσκολη εκτός και αν είναι πολλά. Με το μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου δεν ανιχνεύονται έγκλειστα που δεν είναι ώριμα και μικρές αποικίες μικροβίων μπορούν να εκληφθούν ως έγκλειστα όταν δεν υπάρχει εμπειρία. Το αποτέλεσμα μπορεί ακόμη να επηρεασθεί και από την ποιότητα της χρωστικής. Τα έγκλειστα του *C. psittaci* δεν αυτοφθορίζουν και δεν φαίνονται σε μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου. Στο

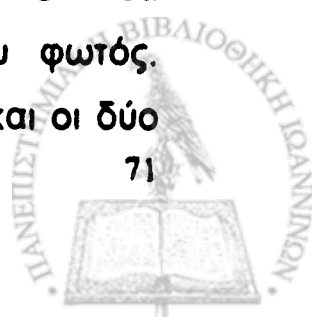


μικροσκόπιο διερχομένου φωτός δεν έχουν σαφή περιφέρεια και γενικώς είναι μεγαλύτερα και ακανόνιστα στην εμφάνιση.

Η μήτρα του γλυκογόνου που υπάρχει στα έγκλειστα του *C. trachomatis* μπορεί να ανιχνευθεί με ποικίλες χρώσεις. Με ιώδιο το γλυκογόνο βάφεται καφέ, με καρμίνη βάφεται κόκκινο και με PAS πορφυρό. Η πιο απλή χρώση είναι η του ιωδίου και έχει το πλεονέκτημα ότι η παρατήρηση γίνεται σε μικροσκόπιο διερχομένου φωτός.

Όλες οι τεχνικές στις οποίες χρωματίζεται το γλυκογόνο μπορούν να ανιχνεύσουν έγκλειστα μέσα σε 24 ώρες από τον εμβολιασμό. Εντούτοις, το ποσό του γλυκογόνου στα έγκλειστα και η αποτελεσματικότητα της χρώσης ποικίλλουν κατά την διάρκεια του κύκλου ανάπτυξης. Οι χρώσεις αυτές δεν είναι κατάλληλες για την ανεύρεση έγκλειστων του *C. psittaci*, τα οποία δεν περιέχουν γλυκογόνο.

Οι ανοσοκυταροχημικές χρώσεις χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση εγκλείστων του *C. trachomatis* και του *C. psittaci*. Στις τεχνικές αυτές χρησιμοποιείται αντίσωμα σεσημασμένο με ισοθειοκυανική φλουοροσεΐνη (FITC) ή υπεροξειδάση. Το αντιχλαμυδιακό αντίσωμα πρέπει να είναι υψηλού τίτλου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρώτο αντίσωμα σ' ένα έμμεσο σύστημα, ή συνδεδεμένο με FITC ή υπεροξειδάση σ' ένα άμεσο σύστημα. Οι Munday και συνεργάτες (1980) συνέκριναν τον έμμεσο ανοσοφθορισμό με την χρώση Giemsa και βρήκαν ότι ο πρώτος ανιχνεύει μεγαλύτερο αριθμό εγκλείστων. Οι Woodland και συνεργάτες (1978) συνέκριναν την ανοσοϋπεροξειδάση και τον ανοσοφθορισμό με την χρώση Giemsa για την ανεύρεση εγκλείστων του *C. trachomatis* και *C. psittaci*. Αυτοί έδειξαν ότι οι ανοσοκυταροχημικές μέθοδοι είχαν παρόμοια ευαισθησία για την ανίχνευση του *C. psittaci* και ήταν καλύτερες από την Giemsa όταν η παρατήρηση γινόταν σε μικροσκόπιο διερχομένου φωτός. Εντούτοις, για την ανίχνευση εγκλείστων του *C. trachomatis* και οι δύο



χρώσεις είχαν παρόμοια ευαισθησία με την Giemsa όταν η παρατήρηση γινόταν σε σκοτεινό πεδίο.

Οι Stephens και συνεργάτες (1982) σε μελέτη έδειξαν ότι όταν χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά αντισώματα, δεν είναι απαραίτητη η ανακαλλιέργεια.

Η μέθοδος ανίχνευσης του DNA με φθορίζουσες χρωστικές, όπως η bisbenzimidazole trihydrochloride έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση των χλαμυδίων. Όμως, τα έγκλειστα δεν φθορίζουν καλά όπως ο πυρήνας του κυττάρου-ξενιστού, όπου αυτά σχηματίζονται, οπότε μπορεί να ληφθούν ως αρνητικά όσα περιέχουν αραιά έγκλειστα. Επίσης, στα επιμολυσμένα δείγματα είναι δύσκολη η διάκριση των εγκλείστων από τις μικροαποικίες μικροβίων.

Η εκλογή της μεθόδου καλλιέργειας και χρώσης που θα χρησιμοποιηθεί είναι θέμα προσωπικής εκτίμησης. Όταν μία μέθοδος έχει καθιερωθεί σ' ένα εργαστήριο και τα αποτελέσματά της μπορούν να συγκριθούν με άλλα κέντρα, είναι καλύτερα να συνεχίζεται η μέθοδος αυτή. Σε όλες τις μεθόδους καλλιέργειας του *C. trachomatis* έχουμε μόνο ένα κύκλο ανάπτυξης. Για να διατηρήσουμε τις καλλιέργειες είναι απαραίτητο, μετά 48 ώρες περίπου, να εμβολιάσουμε ξανά καινούργια μονοστιβάδα κυττάρων.

Η μέτρηση του αριθμού των εγκλείστων δεν είναι απαραίτητη στην καθημερινή πράξη και γίνεται μόνο όταν γίνεται σύγκριση μεθόδων απομόνωσης και το ίδιο δείγμα εμβολιάζεται σε διάφορες κυτταρικές σειρές. Και στις περιπτώσεις αυτές πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το μέγεθος και τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των εγκλείστων.



5. Ορολογικές μέθοδοι για την διάγνωση λοιμώξεων με το *C. trachomatis*.

Επειδή οι τεχνικές για την απομόνωση του *C. trachomatis* σε καλλιέργειες είναι ακριβές και δύσκολες, πολλοί προσπάθησαν να εφαρμόσουν ορολογικές τεχνικές για τη διάγνωση. Δυστυχώς όμως αντισωματική ανταπόκριση στις χλαμυδιακές λοιμώξεις είναι τέτοια που η διαγνωστική αξία των ορολογικών μεθόδων είναι περιορισμένη.

Είναι γνωστό ότι για να τεθεί η διάγνωση με ορολογικές μεθόδους πρέπει να πληρείται τουλάχιστον ένα από τα παρακάτω κριτήρια :
α) Οροαναστροφή, δηλαδή αύξηση ή πτώση του τίτλου, β) Τετραπλασία ή μεγαλύτερη αύξηση του τίτλου του IgG αντισώματος, γ) Ανίχνευση ειδικών IgM αντισωμάτων.

Ο προσδιορισμός του τίτλου αντισώματος σ' ένα μόνο δείγμα αίματος αξιολογείται μόνον εάν ο πληθυσμός που μελετάται είναι οροαρνητικός.

Πολλές τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων. Αυτές περιλαμβάνουν συγκόλληση, αιμοσυγκόλληση, ανοσοδιάχυση και ραδιοανοσοκαθίζηση. Εντούτοις οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι κυρίως η σύνδεση συμπληρώματος (CF-test) και ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (Micro IF test) και λιγότερο η ανοσοενζυματική μέθοδος (Elisa) και η ραδιοανοσολογική μέθοδος (RIA).

Δοκιμασία σύνδεσης συμπληρώματος (C.F.-test)

Η σύνδεση συμπληρώματος χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Bedson το 1935, για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι των χλαμυδίων σε περιπτώσεις ψιπτάκωσης και αργότερα αφροδισίου λεμφοκοκκιώματος.

Η δοκιμασία C.F. είναι ευαίσθητη μέθοδος για την ανίχνευση αντισωμάτων σε συστηματικές λοιμώξεις, όπως η ψιπτάκωση και το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα, αλλά η ευαισθησία της είναι περιορισμένη σε εντοπισμένες χλαμυδιακές λοιμώξεις. Με τη μέθοδο αυτή ανιχνεύουμε αντισώματα έναντι ενός θερμοανθεκτικού πολυσακχαριτικού αντιγόνου (Dhir et al., 1972), που είναι κοινό για όλα τα είδη του γένους των χλαμυδίων. Επομένως με τη μέθοδο αυτή δεν μπορούν να διαφοροποιηθούν τα αντισώματα που παράγονται έναντι του *C. psittaci* ή *C. trachomatis*.

Οι Schachter και συνεργάτες (1967) συνέκριναν την C.F. με άλλες μη ορολογικές μεθόδους σε ασθενείς με οφθαλμογεννητικές λοιμώξεις και βρήκαν ότι η C.F. είχε τη μικρότερη διαγνωστική αξία.

Αν και ο τίτλος των C.F. αντισωμάτων αυξάνει σε μία οξεία χλαμυδιακή λοίμωξη του γεννητικού συστήματος στους άνδρες και στις γυναίκες, οι ασθενείς προσέρχονται συνήθως αργά για εξέταση, όταν οι τίτλοι βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα. Επίσης, επειδή μία μεγάλη αναλογία ασθενών έχει αντισώματα από προηγούμενη ή τρέχουσα αφανή λοίμωξη, υπάρχει δυσκολία στην εκτίμηση του αποτελέσματος.

Οι Schachter και Dawson (1977) με τη μέθοδο microIF ανίχνευσαν αντισώματα σε ασθενείς με επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα σε ποσοστό 100%, ενώ με την C.F. σε ποσοστό μόνο 50%. Τα αντίστοιχα ποσοστά σε ασθενείς με χλαμυδιακή NGU ήταν 90% και 15% και στην χλαμυδιακή τραχηλίτιδα 99% και 40%. Η C.F. ενώ είναι χρήσιμη για την διάγνωση του LGV και της ψιπτάκωσης, η αξία της για τη διάγνωση των οφθαλμογεννητικών λοιμώξεων από *C. trachomatis* είναι μικρή και για το λόγο αυτό δεν χρησιμοποιείται ως διαγνωστική μέθοδος σε αυτές τις λοιμώξεις.



Δοκιμασία του μικροανοσοφθορισμού (micro-IF test)

Η μέθοδος για πρώτη φορά ανακοινώθηκε από τον Wang το 1971. Η κλασσική μέθοδος του micro-IF χρησιμοποιεί αντιγόνο υψηλού τίτλου που έχει παρασκευασθεί στο λεκιθικό σάκο εμβρυοφόρων ωών, αν και μπορεί να χρησιμοποιηθεί και αντιγόνο που αναπτύχθηκε σε καλλιέργειες κυττάρων. Το ειδικό αντιγόνο του τύπου τοποθετείται υπό μορφή κηλίδων σε αντικειμενοφόρο πλάκα με τη βοήθεια του άκρου ενός αιχμηρού ραβδίου. Οι κηλίδες των αντιγόνων αφού στεγνώσουν, καλύπτονται με τις κατάλληλες αραιώσεις του ορού του ασθενούς. Τέλος, μία σεσημασμένη με φλουορεσείνη αντιανθρώπιος σφαιρίνη (η οποία μπορεί να είναι IgG, IgM ή IgA) προστίθεται με αντιθετική χρώση. Σε θετικό αποτέλεσμα τα EBs δίνουν ένα πράσινο φθορισμό. Η υψηλότερη αραιώση του ορού που δίδει θετικό αποτέλεσμα είναι ο τίτλος αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα του ορού. Οι Wang και Grayston (1974), Holmes και συνεργάτες (1975) σε επιδημιολογικές και διαγνωστικές εργασίες ασθενών με οφθαλμογεννητικές χλαμυδιακές λοιμώξεις, με την micro-IF δοκιμασία ανίχνευσαν ειδικά του τύπου IgM αντισώματα, και οροαναστροφή προς ομόλογα στελέχη. Επειδή όμως η δοκιμασία ήταν πολύπλοκη για να χρησιμοποιηθεί στην καθημερινή πράξη, έγιναν πολλές προσπάθειες για να απλοποιηθεί η μέθοδος, με τη χρησιμοποίηση μίγματος αντιγόνων ή αντιγόνου που έδιδε διασταυρούμενες αντιδράσεις. Οι Wang και συνεργάτες (1975) χρησιμοποίησαν εννέα μίγματα αντιγόνων (antigens pools) για τους 15 οροτύπους και τρεις μόνο αραιώσεις του ορού των ασθενών για προκαταρκτική εξέταση (screening test). Οι Treharne και συνεργάτες (1977) ελάττωσαν τον αριθμό του μίγματος των αντιγόνων σε τέσσερα. Η ευαισθησία της μεθόδου ήταν ελαφρώς μικρότερη από την κλασσική μέθοδο, αλλά συντομότερη και λιγότερο δαπανηρή.

Πολλοί ερευνητές εξάλλου παρατήρησαν ότι ενώ η ευαισθησία του Micro-IF ήταν υψηλή, η ανοσοτυπική ειδικότητα ήταν χαμηλή. Οι διασταυρούμενες αντιδράσεις ήταν συχνές και η ερμηνεία της ομόλογης αντισωματικής ανταπόκρισης σε μία τρέχουσα λοίμωξη πολύπλοκη. Παρ' όλα αυτά, για ορολογική διάγνωση στην καθημερινή πράξη, η ειδικότητα της εξέτασης όσον αφορά στο αντιγόνο της ομάδας μαζί με την υψηλή ευαισθησία έχει μεγαλύτερη σημασία από ότι η ειδικότητα αυτής, προς τους οροτύπους. Οι αξιοσημείωτες διασταυρούμενες αντιδράσεις των οροτύπων του *C. trachomatis* με τους οροτύπους του L.G.V. οδήγησε στη χρησιμοποίηση ενός μόνον αντιγόνου στο micro-IF test και στις τροποποιήσεις του.

Οι Thomas και συνεργάτες (1976), χρησιμοποίησαν τον ορότυπο L₂ ως μόνον αντιγόνο και βρήκαν ότι το 95,8% των ορών που αντιδρούσαν με ένα τουλάχιστον από τους ένδεκα οροτύπους, αντιδρούσαν επίσης σε μία αραιώση 1:16 με το L₂ αντιγόνο. Η μέθοδος αυτή είναι πολύ χρήσιμη για την αρχική προκαταρκτική εξέταση ορών για την παρουσία ή απουσία αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων.

Οι Richmond και Caul (1975), χρησιμοποίησαν ως αντιγόνο όλο το έγκλειστο που σχηματίζεται σε καλλιέργειες κυττάρων και υποστήριξαν ότι οι ορότυποι που χρησιμοποιούνται στο απλό ενός αντιγόνου Micro-IF test ανιχνεύουν ένα μίγμα αντισωμάτων ειδικών της ομάδας και του τύπου.

Οι Yong και συνεργάτες (1979) χρησιμοποίησαν ως αντιγόνο RBs του *C. trachomatis* του ορότυπου C, και βρήκαν ότι η ευαισθησία της μεθόδου ήταν ίδια με αυτή που χρησιμοποιεί EBs, και μπορεί να ανιχνεύει IgG και IgM αντισώματα στον ορό και στις εκκρίσεις του κόλπου. Τέλος, περαιτέρω μελέτες με αντιγόνο αυτού του τύπου από τους Wang και Grayston (1982) έδειξαν ότι δεν είναι τόσο ευαίσθητο όσο



το αντιγόνο από EBs για την ανίχνευση των IgG στις οξείες λοιμώξεις και η ανίχνευση των ειδικών IgM είναι σπάνια.

Ένα από τα μειονεκτήματα του Micro-IF test είναι η παρασκευή αντιγόνου. Οι περισσότερες μέθοδοι χρησιμοποιούν αντιγόνο που παρασκευάζεται σε εμβρυοφόρα ωά. Υπάρχουν τεχνικές δυσκολίες για την παρασκευή αντιγόνου, ακόμη και σε εργαστήρια που έχουν τη δυνατότητα καλλιέργειών σε ωά. Επίσης, αν και γίνονται συνέχεια προσπάθειες για να προτυποποιηθεί η μέθοδος, η χρησιμοποίηση διαφορετικών αντιγόνων, τα ποικίλα κριτήρια, η υποκειμενική εκτίμηση των τίτλων που θεωρούνται αρνητικοί ή θετικοί, κάνουν δύσκολη τη σύγκριση αποτελεσμάτων από διαφορετικά εργαστήρια.

Ανοσοενζυματική μέθοδος (Elisa)

Ως αντιγόνο στη δοκιμασία αυτή έχει χρησιμοποιηθεί EBs του οροτύπου L₂ του *C. trachomatis*, είτε υπό μορφή ολικών σωματίων ή σαν διαλυτό αντιγόνο ειδικό της ομάδας. Η ευαισθησία της μεθόδου είναι παρόμοια με αυτή του micro-IF-test. Οι Finn και συνεργάτες (1983) βρήκαν όμως την Elisa ολιγότερο ευαίσθητη και δεν μπόρεσαν να ανιχνεύσουν ειδικά IgM αντισώματα.

Ραδιοανοσολογική μέθοδος (RIA)

Ως αντιγόνο στη μέθοδο έχει χρησιμοποιηθεί ο ορότυπος L₂ του *C. trachomatis*, για την ανίχνευση αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων. Η μέθοδος ανιχνεύει αντισώματα ειδικά της ομάδας και είναι υψηλής ευαισθησίας.

Η εκτίμηση όμως των αποτελεσμάτων με τις μεθόδους αυτές για τη διάγνωση δεν έχει καθορισθεί ακόμη.

6. Η σκοπιμότητα εφαρμογής ορολογικών μεθόδων στη διάγνωση των χλαμυδιακών λοιμώξεων

Μέχρι σήμερα, η μέθοδος του micro-IF είναι η ορολογική δοκιμασία εκλογής για τις χλαμυδιακές λοιμώξεις. Η CF, αν και χρήσιμη στις συστηματικές λοιμώξεις, είναι λιγότερο ειδική επειδή το αντιγόνο CF είναι αντιγόνο ομάδας.

Σε εργασία των Wang και συνεργατών (1975) βρέθηκε τίτλος αντισωμάτων > 8 σε ποσοστό 60% των ενηλίκων που προέρχονται από κλινικές αφροδισίων νοσημάτων, σε 25% των ενηλίκων χωρίς ιστορικό λοίμωξης του γεννητικού συστήματος και σε 9% των παιδιών ηλικίας κάτω των δέκα πέντε ετών.

Οι Treharne και συνεργάτες (1978) συνέκριναν την ορολογική διάγνωση με την απομόνωση, σε μια προσπάθεια να ερευνήσουν εάν είναι δυνατόν να γίνει διάγνωση ενεργού χλαμυδιακής λοίμωξης μόνον ορολογικά. Ένα μόνον δείγμα ορού ή εκκρίσεων εξετάσθηκε. Αν και διαπιστώθηκε ότι οι ορολογικές μέθοδοι είναι ευαίσθητοι, εν τούτοις δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μόνες για οριστική διάγνωση ορισμένων χλαμυδιακών λοιμώξεων, καθώς ορισμένες γυναίκες με καλλιέργεια θετική δεν έδωσαν σημαντικά υψηλούς τίτλους.

Υπάρχει συμφωνία πολλών ερευνητών (Treharne et al., 1983, Schachter και Dawson, 1978) ότι σε ορισμένες χλαμυδιακές λοιμώξεις δεν μπορεί να τεθεί διάγνωση μόνο με ορολογικές δοκιμασίες, γιατί οι δοκιμασίες δεν μπορούν να αντικαταστήσουν την απομόνωση σε καλλιέργειες κυττάρων. Η απομόνωση του παθογόνου μικροοργανισμού και μόνον, είναι αυτή που θέτει την οριστική διάγνωση. Βέβαια και η απομόνωση δεν έχει ευαισθησία 100%. Σε κλινικά διαγνωσμένες χλαμυδιακές λοιμώξεις του οφθαλμού, η ευαισθησία ελαττώνεται με τον βαθμό της σοβαρότητας της φλεγμονής και είναι χαμηλή σε χρόνιες ή



υποτροπιάζουσες λοιμώξεις. Στις χλαμυδιακές λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος, η ευαισθησία της απομόνωσης είναι άγνωστη εφόσον δεν υπάρχουν κλινικά κριτήρια που καθορίζουν αυτές τις λοιμώξεις. Οι ορολογικές δοκιμασίες είναι δαπανηρές μέθοδοι για να χρησιμοποιηθούν στην προκαταρκτική εξέταση ορισμένων πληθυσμών, ώστε να βρεθεί η συχνότητα των χλαμυδιακών λοιμώξεων. Σε ορισμένες καταστάσεις, μπορεί να χρησιμοποιηθούν σαν δείκτης αυτών των λοιμώξεων που απαιτούν θεραπεία (Treharne et al., 1983). Σε περιπτώσεις ενδημικού τραχώματος και παρατραχώματος των ενηλίκων, η διαγνωστική αξία των μεθόδων μπορεί να αυξηθεί με την ανεύρεση αντισωμάτων στα δάκρυα (Treharne et al., 1982).

Η ανεύρεση IgM αντισωμάτων σε διάφορες χλαμυδιακές λοιμώξεις είναι ένας υψηλής ειδικότητας δείκτης ενεργού λοίμωξης. Εντούτοις η επιδημιολογία των περισσότερων χλαμυδιακών λοιμώξεων είναι τέτοια που αποκλείει την ανεύρεση IgM αντισωμάτων στους περισσότερους ασθενείς. Συνήθως οι ασθενείς προσέρχονται για εξέταση αρκετό χρόνο μετά τη λοίμωξη, οπότε είναι πιθανόν να μην υπάρχουν IgM αντισώματα στον ορό, ενώ το *C. trachomatis* μπορεί να απομονωθεί από τον ασθενή. Επίσης υπάρχουν περιπτώσεις όπου τα IgM αντισώματα παραμένουν σε μερικούς ασθενείς με αρνητική την καλλιέργεια για χλαμύδια (Richmond και Caul, 1975).

Η μεγάλη συχνότητα ανίχνευσης αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων στον ορό του γενικού πληθυσμού και οι λίγες γνώσεις μας αναφορικά με το χρόνο εμφάνισης και παραμονής των αντισωμάτων είναι οι λόγοι για τους οποίους οροαναστροφή ή τετραπλάσια αύξηση του τίτλου των αντισωμάτων διαπιστώνεται σε λίγους ασθενείς με χλαμυδιακή λοίμωξη.

Στην NGU και PGU η διαγνωστική αξία των ορολογικών μεθόδων είναι πολύ μικρή. Μπορεί να βρεθεί τετραπλάσια αύξηση του τίτλου των IgG αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων σε μερικούς ασθενείς, κυρίως μετά



το πρώτο επεισόδιο ουρηθρίτιδας. Στην οξεία σαπλιγγίτιδα και περιηπατίτιδα γενικώς ανευρίσκονται υψηλά επίπεδα IgG αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων, αλλά για την οριστική ορολογική διάγνωση είναι απαραίτητο να ανιχνευθεί τετραπλάσια ή μεγαλύτερη αλλαγή στον τίτλο των αντισωμάτων.

Η αξία της ορολογικής διάγνωσης στις χλαμυδιακές λοιμώξεις των νεογνών είναι αβέβαιη, αν και η ανεύρεση ειδικών IgM αντισωμάτων σε νεογνά με ύποπτη χλαμυδιακή πνευμονίτιδα είναι η πιο πρακτική και ειδική μέθοδος για τη διάγνωση αυτής της νόσου (Wang και Grayston, 1982).

Αν και οι χλαμυδιακές ορολογικές δοκιμασίες ακόμη και σήμερα έχουν περιορισμένη διαγνωστική αξία, βοηθούν σημαντικά ως επιβεβαιωτικές δοκιμασίες. Η δοκιμασία του μικροανοσοφθορισμού, που εφαρμόστηκε σε οροεπιδημιολογικές μελέτες, βοήθησε στην απόκτηση πολλών γνώσεων για τη συχνότητα των χλαμυδιακών λοιμώξεων και τον καθορισμό λοιμώξεων, που η χλαμυδιακή αιτιολογία τους ήταν άγνωστη ή μόνον ύποπτη.

7. Τοπικά αντισώματα (local antibodies)

Δεν υπάρχει συμφωνία εάν τα ανευρισκόμενα σε διάφορες περιοχές αντισώματα π.χ. στις εκκρίσεις του τραχήλου, έχουν διαγνωστική αξία για τις λοιμώξεις αυτών των περιοχών. Μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η παραγωγή τοπικών αντισωμάτων είναι ένας καλός δείκτης τρέχουσας λοίμωξης (Treharne et al., 1978). Άλλοι, όπως ο McComb (1979) σε παρόμοιες εργασίες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα τοπικά αντισώματα ήταν καλύτερος δείκτης λοίμωξης με το *C. trachomatis* από ότι τα αντισώματα στον ορό. Σε αντίθεση, οι Schachter και συνεργάτες (1979) βρήκαν ότι τα χλαμυδιακά αντισώματα που ανευρίσκονται στον



ορό ή τις εκκρίσεις του κόλπου (IgG, IgM και IgA) με CF ή micro-IF, ήταν ένας πτωχός δείκτης τρέχουσας χλαμυδιακής λοίμωξης σε σύγκριση με την καλλιέργεια. Οι Richmond και συνεργάτες (1980) που εξέτασαν γυναίκες σε κλινικές σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων, σημείωσαν μεγάλη συσχέτιση ανάμεσα στα ειδικά τοπικά χλαμυδιακά αντισώματα και αυτά του ορού, αλλά μικρή μεταξύ των τοπικών αντισωμάτων και της απομόνωσης των χλαμυδίων από τον τράχηλο.

Οι ανωτέρω ασυμφωνίες δείχνουν ότι η διαγνωστική αξία ενός μόνον προσδιορισμού των τοπικών αντισωμάτων ή των αντισωμάτων του ορού για τρέχουσα χλαμυδιακή λοίμωξη είναι αμφίβολη και η απομόνωση παραμένει η μέθοδος εκλογής για τη διάγνωση.

8. Εργαστηριακές τεχνικές

Χρώση Giemsa

-Επιχρίσματα κλινικών δειγμάτων ή καλυπτρίδες καλλιεργειών κυττάρων αφού στεγνώσουν μονιμοποιούνται με μεθανόλη για 10'.

-Μετά την μονιμοποίηση τα παρασκευάσματα καλύπτονται με πρόσφατα αραιωμένη χρωστική Giemsa (1 μέρος πυκνής χρωστικής + 9 μέρη φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος).

-Χρώση για 30'.

-Απόπλυση της Giemsa με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα και έκπλυση δύο φορές με ρυθμιστικό διάλυμα pH 6,8.

-Τα επιχρίσματα αφού στεγνώσουν εξετάζονται με καταδυτικό φακό σε μικροσκόπιο διερχόμενου φωτός.

-Οι καλυπτρίδες με καλλιέργειες κυττάρων εξετάζονται με αντικειμενικό φακό X 40 σε μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου ή και σε μικροσκόπιο διερχόμενου φωτός.

Χρώση με Ιώδιο

-Τα μονιμοποιηθέντα με μεθανόλη παρασκευάσματα καλύπτονται με 10% διάλυμα ιωδίου (Lugol).

-Χρώση για 5'.

-Απόρριψη της περίσσειας του ιωδίου.

-Επιχρίσματα ή καλυπτρίδες καλλιεργειών αφού στεγνώσουν καλύπτονται με διάλυμα γλυκερόλης (mounting fluid) και εξετάζονται με αντικειμενικό φακό Χ40 σε μικροσκόπιο διερχομένου φωτός.

Τεχνικές απομόνωσης

Απομόνωση *C. trachomatis* σε επεξεργασμένα με κυκλοεξιμίδη McCoy κύτταρα.

Υλικά

McCoy κύτταρα

Υλικό ανάπτυξης (Growth medium): Minimum Essential Medium (MEM) που περιέχει 10% ορό εμβρύου αγελάδας (10% C.F.S.), 1% γλουταμίνη (200 mM), 2% δικαρβονικά άλατα 7,5%, 4,4% διαλύματος γλυκόζης 10%, βιταμίνες (1% της Flow Lab X100 συμπυκνωμένες), γενταμικίνη 100 μg/ml ή 40 μg/ml, βανκομικίνη 25μg/ml ή 100 μg/ml και αμφοτερικίνη 4 μg/ml.

Υλικό μεταφοράς. Ως υλικό μεταφοράς για όλα τα δείγματα καθώς και υλικό για την διατήρηση των δειγμάτων μέχρι τον εμβολιασμό των κυτταροκαλλιεργειών, χρησιμοποιείται το υλικό 2SP.

Σύνθεση υλικού 2SP

Σουκρόζη 68,46 gr

KH₂PO₄ 1,088 gr

K₂HPO₄ 2,088 gr



Αποσταγμένο νερό 1000 ml

Ρύθμιση του pH στο 7, αποστείρωση στο αυτόκαυστο 110° C για 10'.

Προστίθεται

Ορός εμβρύου αγελάδας (FCS) 5%

Γενταμικίνη 50 µg/ml

Βανκομικίνη 100 µg/ml

Αμφοτερικίνη 5 µg/ml

Το υλικό διαμοιράζεται ανά 2 ml σε βιδωτά πλαστικά σωληνάρια και διατηρείται στους -20° C.

Πλαστικά σωληνάρια καλλιέργειών: Σωληνάρια των 5 ml με επίπεδο πυθμένα όπου τοποθετείται μία καλυπτρίδα των 12 mm.

Διάλυμα κυκλοεξιμίδης: Πυκνό διάλυμα 200 µg/ml σε αποσταγμένο νερό. Φυλάσσεται στους -20° C. Τελική συγκέντρωση στο υλικό ανάπτυξης 1 ή 2 µg/ml.

Μέθοδος

Κύτταρα McCoy που έχουν σχηματίσει συρρέουσα μονοστιβάδα σε φιάλες καλλιέργειας μετά την απόρριψη του υλικού ανάπτυξης, πλένονται με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα. Προστίθεται διάλυμα 0.2% τρυψίνης για την αποκόλληση των κυττάρων. Μόλις αρχίσει η αποκόλληση απομακρύνεται η τρυψίνη και παραλαμβάνονται τα κύτταρα με υλικό ανάπτυξης. Μετά την μέτρηση του αριθμού των κυττάρων γίνεται εναιώρημα αυτών (2×10^5 κύτταρα ανά ml όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν την επόμενη ημέρα ή 10^5 κύτταρα ανά ml όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν μετά την 2η ημέρα. Τα αραιωμένα σε υλικό ανάπτυξης κύτταρα μοιράζονται σε πλαστικά σωληνάρια που περιέχουν καλυπτρίδα (1,5 ml/σωληνάριο) και επωάζονται στους 37° C



για 24-48 ώρες. Την ημέρα του εμβολιασμού απορρίπτεται το υλικό ανάπτυξης και προστίθεται 1 ml υλικού που έχει παρασκευασθεί πρόσφατα. Στην συνέχεια προστίθεται 0,5 ml υλικού μεταφοράς που περιέχει το προς εξέταση δείγμα. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 3.500 στροφές ανά λεπτό για μία ώρα και επώαση για 2 ώρες στους 37° C. Μετά την επώαση απορρίπτεται το υλικό και προστίθενται 2 ml υλικού ανάπτυξης που περιέχουν κυκλοξειμίδη 1 µg/ml ή 2 µg/ml. Επακολουθεί επώαση 2-3 ημερών σε 37° C σε ατμόσφαιρα CO₂ 5%. Απορρίπτεται το υλικό, γίνεται μονιμοποίηση των κυτταροκαλλιιεργειών στις καλυππίδες, χρώση και εξέταση στο μικροσκόπιο. Η μονιμοποίηση γίνεται με μεθανόλη όταν πρόκειται να βαφεί με Giemsa ή Lugol και ακετόνη όταν πρόκειται να βαφεί με μονοκλωνικά φθορίζοντα αντισώματα.

Τεχνική του εμμέσου μικροανοσοφθορισμού (Micro-IF test)

Στο micro-IF test ως αντιγόνο χρησιμοποιούνται χλαμύδια που έχουν αναπτυχθεί στο λεκιθικό σάκκο. Συλλέγονται οι λεκιθικοί σάκκοι των ωών που είναι πλούσιοι σε EBs και γίνεται προτιπλοποίηση για μία περαιτέρω κατανομή των σωματιδίων. Συνήθως ένα εναιώρημα 1-3% του λεκιθικού σάκου (σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα, pH 7.0) είναι ικανοποιητικό. Το αντιγόνο μπορεί να φυλαχτεί στους -70° C. Όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί αναμιγνύεται καλά σε ανακινητήρα μετά την απόψυξη. Κηλίδες αντιγόνου τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Για κάθε αντιγόνο χρησιμοποιείται ξεχωριστό άκρο ραβδίου. Αφού οι κηλίδες στεγνώσουν στον αέρα μονιμοποιούνται με ακετόνη (15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου). Οι πλάκες μπορούν να φυλαχτούν στους -20° C εάν δεν χρησιμοποιηθούν την ίδια μέρα. Κατά την εκτέλεση της δοκιμασίας οι πλάκες πρέπει να είναι στεγνές. Οι κηλίδες των διαφορετικών αντιγόνων καλύπτονται με διαδοχικές αραιώσεις του ορού



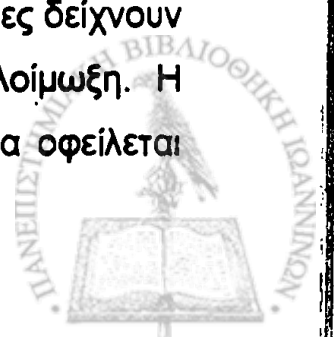
(ή δακρύων ή άλλων εκκρίσεων). Απαιτείται προσοχή στην τοποθέτηση του ορού ή των άλλων υγρών ώστε να μη ρεύσουν από την μία κηλίδα στην άλλη. Ακολουθεί επώαση 30' σε υγρό θάλαμο 37° C. Έπειτα οι πλάκες πλένονται με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα δύο φορές για 5'. Αφού στεγνώσουν, καλύπτονται με αντιανθρώπειο γ-σφαιρίνη σεσημασμένη με φλουροσεΐνη και αντιθετική χρώση η οποία προηγουμένως έχει τιτλοποιηθεί με γνωστό θετικό ορό. Σεσημασμένη anti-IgG, anti-IgA ή anti-IgM μπορεί να χρησιμοποιηθεί. Μετά επώαση 30' οι πλάκες πλένονται δύο φορές με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα και αφού στεγνώσουν εξετάζονται σε μικροσκόπιο φθορισμού.

Ε. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Με την ανάπτυξη της ευαίσθητης και ειδικής δοκιμασίας του micro-IF έγιναν πολλές ορολογικές μελέτες σε ομάδες πληθυσμού, για να ερευνηθεί ο βαθμός έκθεσης στις χλαμυδιακές λοιμώξεις. Χρησιμοποιήθηκαν ποικίλα αντιγόνα, όπως ορότυπος του L.G.V. ή γεννητικός ορότυπος ή μίγμα οροτύπων. Όμως ο απλός προσδιορισμός IgG αντιχλαμυδιακών αντισωμάτων στις περισσότερες μελέτες δεν είναι δυνατόν να δείξει την έκταση της ενεργού χλαμυδιακής λοίμωξης, η οποία μπορεί να βρεθεί με μεθόδους απομόνωσης του μικροοργανισμού. Εντούτοις, οι ορολογικές μελέτες δείχνουν την έκθεση των διαφόρων ομάδων πληθυσμού στη λοίμωξη. Περισσότερο εξειδικευμένες τεχνικές χρειάζονται για ναδειχθεί εάν αυτές οι λοιμώξεις οφείλονται σε γεννητικά ή οφθαλμικά στελέχη και ποιος είναι ο ορότυπος που επικρατεί σε μια περιοχή.

Αρκετές ορολογικές μελέτες έχουν δημοσιευθεί (Wang et al., 1977, Schachter και Dawson, 1978). Περίπου 25% των ανδρών με ενεργό σεξουαλική ζωή και 60% αυτών που επισκέπτονται κλινικές σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων είχαν ανιχνεύσιμα αντιχλαμυδιακά αντισώματα. Στις γυναίκες τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 50% και 80%. Επίσης βρέθηκε ότι παιδιά ηλικίας κάτω των 15 ετών είχαν αντισώματα σε αναλογία περίπου 10%. Τα αντισώματα που ανευρέθηκαν στους ενήλικες ήταν κυρίως έναντι των γεννητικών οροτύπων.

Αν και ο ακριβής χρόνος επώασης και η διάρκεια παραμονής των αντισωμάτων δεν είναι γνωστά, οι διάφορες ορολογικές μελέτες δείχνουν μία αξιόλογη έκθεση του πληθυσμού στην χλαμυδιακή λοίμωξη. Η υψηλότερη αναλογία που βρέθηκε στις γυναίκες πιθανόν να οφείλεται



στη μεγαλύτερη διάρκεια της λοίμωξης ή την προσβολή μεγαλύτερης ανατομικής περιοχής και την ύπαρξη μεγαλύτερου ανοσολογικού ερεθίσματος. Οι McComb και συνεργάτες (1979), σε μία μελέτη σε μαθήτριες κολλεγίου, βρήκαν μία σχέση της παρουσίας αντισωμάτων και του αριθμού των σεξουαλικών συντρόφων. Το ενδιαφέρον αυτής της εργασίας ήταν ότι ορισμένες μαθήτριες χωρίς σεξουαλική εμπειρία είχαν αντιχλαμυδιακά αντισώματα. Δεν είναι γνωστός ο λόγος εμφάνισης αντισωμάτων στις μαθήτριες αυτές καθώς και στο 10% των παιδιών. Υπάρχει η εικασία ότι τα αντισώματα στα παιδιά αναπτύσσονται μετά νεογνική χλαμυδιακή λοίμωξη αλλά δεν μπορεί να αποκλεισθεί η πιθανότητα συνεχιζόμενης έκθεσης στον μικροοργανισμό.

Η συχνότητα των ενεργών χλαμυδιακών λοιμώξεων δεν είναι εύκολο να προσδιορισθεί, επειδή υπάρχουν πρακτικές δυσκολίες στην απομόνωση του μικροοργανισμού σε μεγάλη κλίμακα.

Από διάφορα αποτελέσματα κλινικών σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων, φαίνεται ότι σε μία μικρή αναλογία οι άνδρες και σε μεγαλύτερη οι γυναίκες έχουν ασυμπτωματική χλαμυδιακή λοίμωξη. Επομένως αυτές πρέπει να είναι η πηγή της ασυμπτωματικής λοίμωξης.

Τα αποτελέσματα από οροεπιδημιολογικές μελέτες και καλλιέργειες σε κύτταρα συμφωνούν με την άποψη ότι το *C. trachomatis* είναι ένας μικροοργανισμός που μεταδίδεται με σεξουαλική επαφή. Η άμεση απόδειξη της αφροδισίας εξάπλωσης μπορεί να αποκτηθεί με την έρευνα των σεξουαλικών συντρόφων. Υπάρχει μία μεγάλη διαφορά στις αναλογίες απομόνωσης του *C. trachomatis* από τον τράχηλο γυναικών που οι σεξουαλικοί σύντροφοι είχαν χλαμυδιακή ή μη χλαμυδιακή N.G.U. Η χλαμυδιακή N.G.U. στους άνδρες μπορεί να οφείλεται σε πρωτοπαθή λοίμωξη ή επαναμόλυνση. Λίγοι άνδρες έχουν ήπια συμπτώματα χρόνιας ουρηθρίτιδας που πολλές φορές μένουν αδιάγνωστα. Οι άνδρες αυτοί είναι μολυσματικοί για άλλα άτομα.



Στις γυναίκες, οι περισσότερες χλαμυδιακές λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος είναι ήπιες και παραμένουν ως χρόνιες ασυμπτωματικές για μήνες και έτη. Αυτές οι γυναίκες είναι δυνητικώς μολυσματικές μέχρι να γίνει θεραπεία.

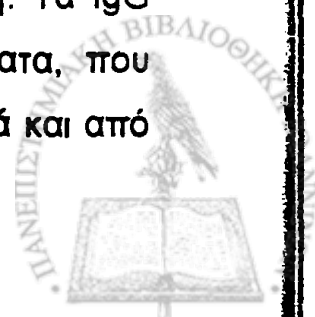
Η μετάδοση του *C. trachomatis* γίνεται με την σεξουαλική επαφή και κατά τον τοκετό. Η μόλυνση κατά τον τοκετό αφορά στα νεογνά, τα οποία μολύνονται κατά τη δίοδό τους από τον μολυσμένο γεννητικό σωλήνα και η νόσος εκδηλώνεται ως επιπεφυκίτιδα ή πνευμονία.

Τέλος, η μετάδοση του *C. trachomatis* μπορεί να γίνει με μηχανικό τρόπο από την άμεσο επαφή υγιών ατόμων με τις οφθαλμικές εκκρίσεις φορέων.

Το L.G.V. μεταδίδεται κυρίως με γενετήσιες σχέσεις, αλλά όχι αποκλειστικώς. Άλλες θύρες εισόδου είναι οι οφθαλμοί και το απευθυσμένο (Jawetz et al., 1980).

Το τράχωμα υπάρχει κυρίως στην Ασία, Αφρική και σε μερικές χώρες της Μεσογείου. Υπολογίζεται ότι επί 250 εκατ. κατοίκων της Ανατ. Μεσογείου και Μέσης Ανατολής, τα 150 εκατ. έχουν κατά πάσα πιθανότητα προσβληθεί από τράχωμα και οι τυφλοί από τη νόσο υπολογίζονται στα 7,5 εκατ. (Παπαπαναγιώτου, 1988).

Όσον αφορά την έκβαση των χλαμυδιακών λοιμώξεων που μένουν χωρίς θεραπεία, υπάρχουν ελάχιστες γνώσεις. Ο λόγος είναι ότι δεν μπορούν να γίνουν μακροχρόνιες μελέτες με προοπτική, επειδή υπάρχει ο κίνδυνος επιπλοκών (Paanonen et al., 1980). Μπορούμε να υποθέσουμε ότι μερικές λοιμώξεις προοδευτικά εξαφανίζονται από τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστού και μερικές γίνονται λανθάνουσες και παραμένουν για αόριστο χρονικό διάστημα. Στην πλειονότητα των χλαμυδιακών λοιμώξεων υπάρχει μια ορολογική ανταπόκριση. Τα IgG αντισώματα μπορούν να παραμείνουν για χρονικά διαστήματα, που εξαρτώνται από την ένταση και τη διάρκεια της λοίμωξης, αλλά και από



παράγοντες του ξενιστή. Δεν έχει τεκμηριωθεί αν τα αντισώματα αυτά είναι προστατευτικά. Όπως υποστηρίζουν οι Taylor Robinson και Thomas (1980) μία πρόσκαιρη ανοσία αναπτύσσεται μετά τη λοίμωξη, αλλά όταν αυτή αναπτυχθεί δεν φαίνεται να διαρκεί για μακρύ χρονικό διάστημα. Οι Oriel και Ridgway (1982), πολλές φορές παρατήρησαν επαναμολύνσεις ανδρών και γυναικών αμέσως μετά τη θεραπεία.



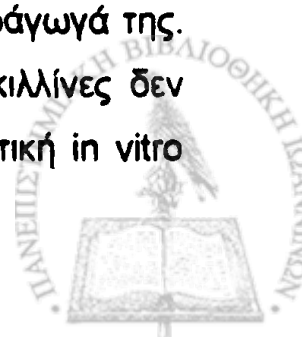
ΣΤ. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι χλαμυδιακές λοιμώξεις επιμένουν για μακρύ χρονικό διάστημα. Το L.G.V. είναι μία χρόνια νόσος. Το τράχωμα είναι χρόνια νόσος που παραμένει ενεργός ή παρουσιάζει υποτροπές για αόριστο χρονικό διάστημα. Οι λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος δείχνουν παρόμοια συμπεριφορά και εάν δεν γίνει η κατάλληλη θεραπεία αυτών ο μικροοργανισμός παραμένει ζωντανός για αρκετές εβδομάδες και πιθανόν για μακρύτερο χρονικό διάστημα (McCormack et al., 1979, Johannison et al., 1979). Τα βρέφη με χλαμυδιακή πνευμονία που παραμένουν χωρίς θεραπεία διασπείρουν τον μικροοργανισμό για δύο χρόνια (Beem και Saxon, 1977).

Εφόσον αυτόματη ίαση δεν φαίνεται να συμβαίνει, οι λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος με *C. trachomatis* απαιτούν δραστική θεραπεία. Ακόμη και οι ήπιες ή ασυμπτωματικές λοιμώξεις μπορεί να οδηγήσουν σε σοβαρές επιπλοκές. Ο μεγάλος αριθμός χλαμυδιακών λοιμώξεων σε μία κοινότητα αναμφίβολα σημαίνει και συχνές σοβαρές λοιμώξεις στους άνδρες, γυναίκες και νεογνά.

1.Εκλογή φαρμάκου

Αυτή εξαρτάται, πρώτον: από την in vitro ευαισθησία του *C. trachomatis*. In vitro τα πιο δραστικά φάρμακα είναι: 1) οι τετρακυκλίνες, συμπεριλαμβανομένων και των καινούργιων παραγώγων, μινουσικλίνη και ντοξυσικλίνη, 2) οι μακρολίδες ερυθρομυκίνη και ροσοραμυκίνη, 3) η ριφαμπίνη και τα παράγωγά της. Οι σουλφοναμίδες δείχνουν μικρότερη δράση ενώ οι πενικιλίνες δεν είναι δραστικές. Μολονότι η ριφαμπίνη είναι ιδιαίτερα δραστική in vitro



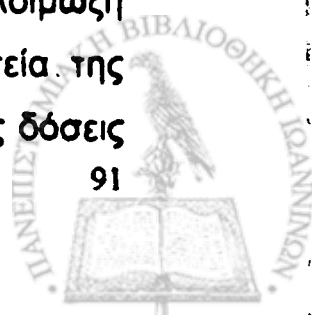
έναντι του *C. trachomatis*, δεν χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των χλαμυδιακών λοιμώξεων γιατί εύκολα αναπτύσσεται ανθεκτικότητα του μικροοργανισμού σ' αυτήν. Δεύτερον: από την ιδιότητα του φαρμάκου να συγκεντρώνεται εκλεκτικά στους ιστούς του γεννητικού συστήματος, π.χ. του προστάτου. Η μινουσικλίνη και ντοξυσικλίνη συγκεντρώνεται στον προστάτη. Επίσης, η ερυθρομυκίνη και ροσαραμυκίνη εισχωρούν καλά στους πρόσβληθέντες ιστούς.

Τα αντιχλαμυδιακά φάρμακα πρέπει να είναι δραστικά συγχρόνως έναντι άλλων παθογόνων μικροβίων του γεννητικού συστήματος. Οι τετρακυκλίνες έχουν ευρύ φάσμα δράσης και είναι δραστικές και έναντι του *U. urealyticum*.

Τελικά, το φάρμακο που θα επιλεγεί πρέπει να είναι απλό στη χορήγηση, να μην έχει ανεπιθύμητες ενέργειες και να μην είναι δαπανηρό. Στην κλινική πράξη, τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται συχνότερα είναι οι τετρακυκλίνες και η ερυθρομυκίνη, κυρίως η βασική ή στεατική μορφή της.

2.Θεραπεία χλαμυδιακών λοιμώξεων οφθαλμού

α) Τράχωμα. Η τοπική χρήση τετρακυκλινών ή ερυθρομυκίνης για μακρύ χρονικό διάστημα είναι αποτελεσματική στο τράχωμα. Η τοπική χρήση σουλφαναμιδών δεν είναι αποτελεσματική. Οι τετρακυκλίνες δίδουν καλά αποτελέσματα, αλλά δεν μπορούν να χορηγηθούν σε παιδιά ηλικίας κάτω των επτά ετών ή σε έγκυες γυναίκες. Οι σουλφοναμίδες είναι αποτελεσματικές όταν χορηγούνται από το στόμα και συνδυάζονται με τοπική θεραπεία με τετρακυκλίνη, αλλά η χρήση τους είναι περιορισμένη λόγω αλλεργικών αντιδράσεων. Η οξεία λοίμωξη είναι δυνατόν να θεραπευθεί με τετρακυκλίνη, αλλά η θεραπεία της χρόνιας χλαμυδιακής λοίμωξης είναι δύσκολη και απαιτεί υψηλές δόσεις



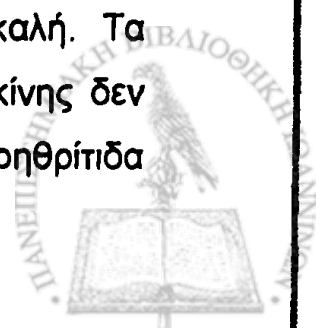
για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ο Jawetz (1969) πιστεύει ότι η χορήγηση τετρακυκλίνης, αν και αναστέλλει την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό του *C. trachomatis*, μπορεί να αποτύχει στην πλήρη εξαφάνιση του μικροβίου από τον οφθαλμό.

β) Επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα. Επειδή αυτή προκαλείται από τους ίδιους οροτύπους που προκαλούν λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος, η χορήγηση τετρακυκλινών για τρεις εβδομάδες οδηγεί σε ταχεία βελτίωση και θεραπεία. Σε ασθενείς που δεν μπορούν να πάρουν τετρακυκλίνες χορηγούνται παράγωγα της ερυθρομυκίνης σε ανάλογες δόσεις (Heggie et al., 1980).

3. Θεραπεία χλαμυδιακών λοιμώξεων του γεννητικού συστήματος των ανδρών

α) Μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα (N.G.U.) Όλα τα παράγωγα των τετρακυκλινών είναι ιδιαίτερα δραστικά έναντι του *C. trachomatis* στις λοιμώξεις της ουρήθρας. Η απομόνωση του μικροοργανισμού μετά θεραπεία δύο εβδομάδων μάλλον πρέπει να οφείλεται σε επαναμόλυνση ή μη συμμόρφωση στη θεραπεία. Ακόμη δεν έχουν ανευρεθεί στελέχη ανθεκτικά στις τετρακυκλίνες (CDC, 1985). Η στεατική ερυθρομυκίνη έχει πολύ καλά αποτελέσματα όταν χορηγούνται 500 mg x 2 την ημέρα για δύο εβδομάδες. Θετικές καλλιέργειες μετά τη θεραπεία κατά την παρακολούθηση πρέπει να οφείλονται σε επαναμολύνσεις. Η χορήγηση 4-κινολονών όπως οφλοξασίνης και σιπροφλοξασίνης θα πρέπει να περιορίζεται σε ασθενείς με μικτές λοιμώξεις, επειδή δεν έχουν γίνει αρκετές κλινικές μελέτες.

Η κλινική ανταπόκριση στις τετρακυκλίνες είναι πολύ καλή. Τα αποτελέσματα μετά τη χορήγηση σουλφοναμίδων ή ριφαμπικίνης δεν είναι πολύ καλά. Η αναλογία ασθενών των οποίων η ουρηθρίτιδα



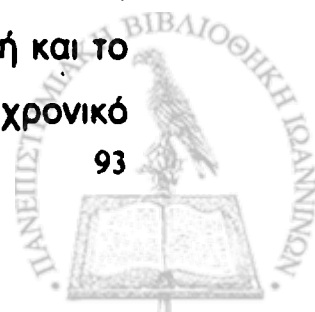
θεραπεύθηκε πλήρως με τη χορήγηση ριφαμπικίνης ήταν μικρότερη από αυτή των ασθενών που έκαναν θεραπεία με μινουσικλίνη.

Η θεραπεία της χλαμυδιακής ουρηθρίτιδας θεωρείται επιτυχής όταν περιορισθεί το *C. trachomatis* και εξαφανισθούν τα συμπτώματα και τα ευρήματα όπως δυσουρία, έκκριμα, ουρηθρικά λευκοκύτταρα. Συνιστάται η θεραπεία με τετρακυκλίνη ή οξυτετρακυκλίνη 250 mg x 4 την ημέρα για δύο εβδομάδες. Μία θεραπεία δύο εβδομάδων έχει το πλεονέκτημα ότι προστατεύει τον ασθενή από επαναμόλυνση, αφού στο διάστημα αυτό μπορούν να εντοπισθούν και να θεραπευθούν οι ερωτικοί σύντροφοι. Τα νεώτερα παράγωγα όπως η μινουσικλίνη και ντοξουσικλίνη είναι αποτελεσματικά και έχουν το πλεονέκτημα μια απλής δοσολογίας και ίσως καλύτερης διείσδυσης στους ιστούς του ουρογεννητικού συστήματος. Η μινουσικλίνη χορηγείται σε δόσεις 100 mg x 2 την ημέρα για δύο εβδομάδες. Σε ασθενείς που δεν μπορούν να λάβουν τετρακυκλίνες χορηγείται στεατική ή βασική ερυθρομικίνη.

Μετά τη θεραπεία, ο ασθενής εξετάζεται τουλάχιστον δύο φορές με μεσοδιάστημα μιας ή δύο εβδομάδων. Η καλλιέργεια για *C. trachomatis* πρέπει να είναι αρνητική. Εάν τα συμπτώματα επιμένουν, χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για συνυπάρχουσα λοίμωξη με άλλους μικροοργανισμούς όπως τριχομονάδα του κόλπου, ή ιό του απλού έρπητα ή άλλα πιθανά αίτια.

Γάλα, προϊόντα γάλακτος, αντιόξινα ή αλκοόλη, δεν πρέπει να λαμβάνονται κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Για τρεις εβδομάδες από την έναρξη της θεραπείας πρέπει να αποφεύγεται η σεξουαλική επαφή.

β) Επιδιδυμίτιδα. Η θεραπεία με τετρακυκλίνες είναι αποτελεσματική για τους άνδρες με επιδιδυμίτιδα από *C. trachomatis* (Berger et al., 1978). Επειδή η διείσδυση στον ιστό που φλεγμαίνει είναι πτωχή και το οίδημα υποχωρεί αργά, πολλοί συνιστούν θεραπεία για μεγάλο χρονικό



διάστημα, 2-3 εβδομάδων. Είναι σημαντικό να εξετάζονται και να θεραπεύονται οι ερωτικοί σύντροφοι.

4. Θεραπεία χλαμυδιακών λοιμώξεων του γεννητικού συστήματος των γυναικών

α) Λοιμώξεις του κατωτέρου γεννητικού συστήματος. Η θεραπεία της χλαμυδιακής τραχηλίτιδας και γενικώς των λοιμώξεων του κατωτέρου γεννητικού συστήματος με αντιχλαμυδιακά φάρμακα είναι επιτυχής. Συνιστάται η χορήγηση τετρακυκλινών ή ερυθρομυκίνης για 2-3 εβδομάδες στις ίδιες δόσεις που δίδονται και για την N.G.U. των ανδρών. Επειδή το 50% περίπου των ερωτικών συντρόφων των γυναικών με χλαμυδιακή τραχηλίτιδα έχουν παρόμοια λοίμωξη της ουρήθρας, συνιστάται θεραπεία αυτών για να μην αποτελούν μία συνεχή εστία μόλυνσης. Κατά την διάρκεια του θηλασμού ή της εγκυμοσύνης μπορεί να χορηγηθεί στεατική ερυθρομυκίνη.

β) Σαλπινγίτιδα. Η θεραπεία των σαλπινγίτιδων είναι γενικά εμπειρική. Η κλινική ανταπόκριση όλων των σαλπινγίτιδων στη θεραπεία με πενικιλίνη, αμπισιλλίνη και τετρακυκλίνη είναι αποτελεσματική. Η θεραπεία της σαλπινγίτιδας πρέπει να γίνεται με πλήρεις δόσεις τετρακυκλινών. Συνήθως οι κλινικοί χορηγούν υψηλότερες δόσεις τετρακυκλίνης ή οξυτετρακυκλίνης. Χορηγούνται 500 mg x 4 την ημέρα για 2 εβδομάδες ή ανάλογες δόσεις ερυθρομυκίνης ή παραγώγων αυτής. Πολλοί κλινικοί χορηγούν συγχρόνως και μετρονιδαζόλη 400 mg x 2 την ημέρα, επειδή πολλές από τις λοιμώξεις αυτές είναι μικτές.



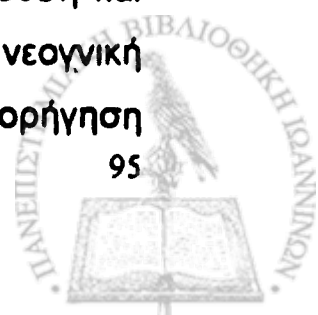
5. Θεραπεία μικτών λοιμώξεων από γονόκοκκο και *C. trachomatis*

Στους άνδρες. Εάν υπάρχουν δυνατότητες για απομόνωση του *C. trachomatis* με καλλιέργεια, αρχίζει η θεραπεία με πενικιλίνη, αμπικιλίνη ή σπεκτινομυκίνη της βλεννόρροιας και εάν η καλλιέργεια είναι θετική χορηγείται τετρακυκλίνη σε πλήρεις δόσεις. Όταν δεν υπάρχουν οι δυνατότητες για καλλιέργεια, μετά την θεραπεία της βλεννόρροιας και όταν ο ασθενής παρουσιάζει συμπτώματα P.G.U. χορηγείται τετρακυκλίνη. Εναλλακτικά, ο κλινικός μπορεί να αποφασίσει θεραπεία μιας δόσης για τη βλεννόρροια και στη συνέχεια πλήρη θεραπεία με τετρακυκλίνη.

Στις γυναίκες. Οι μικτές λοιμώξεις είναι πιο συχνές στις γυναίκες από ότι στους άνδρες. Επίσης οι γυναίκες δεν αναπτύσσουν σύνδρομο ανάλογο με το P.G.U. των ανδρών. Για τους λόγους αυτούς πολλοί σμνιστούν την τετρακυκλίνη ή ερυθρομυκίνη στη θεραπεία της βλεννόρροιας.

6. Θεραπεία λοιμώξεων του νεογνού

α) Νεογνική επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα. Η θεραπεία γίνεται με εφαρμογή αλοιφής τετρακυκλίνης κάθε τέσσερις ώρες για 2-3 εβδομάδες (Rees et al., 1977). Η επιτυχία αυτής της αγωγής αμφισβητείται από πολλούς. Οι Schachter και Dawson (1978) αναφέρουν αποτυχία σε αναλογία 50% των περιπτώσεων. Η αποτυχία της θεραπείας μπορεί να οφείλεται σε μη καλή εφαρμογή της αλοιφής ή στη μικρή διείσδυση και την επαναμόλυνση. Για τους ανωτέρω λόγους, είναι καλύτερα η νεογνική χλαμυδιακή επιπεφυκίτιδα να θεραπεύεται με συστηματική χορήγηση



ερυθρομυκίνης και τοπική εφαρμογή τετρακυκλίνης για 3 εβδομάδες (Ridgway και Oriel, 1977). Οι Heggie και συνεργάτες (1980) σε εργασία τους έδειξαν ότι η συστηματική χορήγηση ερυθρομυκίνης εξαφανίζει τα χλαμύδια από τον επιπεφυκότα και τον ρινοφάρυγγα, ενώ η τοπική εφαρμογή σουλφονακεταμίδης μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την επιμονή της λοίμωξης του επιπεφυκότα και τον αποικισμό του ρινοφάρυγγα.

β) Πνευμονία. Από τους Beem και συνεργάτες (1979) έχει ανακοινωθεί ότι νεογνά με χλαμυδιακή πνευμονία, ενώ δεν παρουσίασαν κλινική βελτίωση με μη ειδική θεραπεία, με τη χορήγηση ερυθρομυκίνης (40 mg/kg/24h για δύο εβδομάδες) έπαυσαν να διασπείρουν τον μικροοργανισμό και παρουσίασαν κλινική βελτίωση. Η ειδική αντιχλαμυδιακή θεραπεία είναι χρήσιμη στις περιπτώσεις που έχει γίνει η διάγνωση και μπορεί να ωφελήσει στις περιπτώσεις που η διάγνωση γίνεται κλινικά επειδή δεν υπάρχει δυνατότητα εργαστηριακής επιβεβαίωσης.

7.Θεραπεία του L.G.V.

Η θεραπεία στα αρχικά στάδια του L.G.V. έχει μεγαλύτερη επιτυχία από ότι στη χρόνια λοίμωξη. Η ανάπτυξη ινώδους ιστού και άλλων βλαβών ελαττώνει την ωφέλεια της θεραπείας και πολλές φορές χρειάζεται χειρουργική επέμβαση. Οι σουλφοναμίδες ήταν από τα πρώτα αντιχλαμυδιακά φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του L.G.V. Αν και δεν έχουν μελετηθεί πολλά θεραπευτικά σχήματα με διαφορετικές σουλφοναμίδες, η εκλογή της σουλφοναμίδης δεν είναι τόσο σημαντική



όσο η χορήγηση σε πλήρεις δόσεις για 2-3 εβδομάδες. Πλεονέκτημα των σουλφοναμιδών είναι ότι δεν καλύπτουν επωαζόμενη συφιλίδα.

Οι τετρακυκλίνες χρησιμοποιούνται με πολύ καλά αποτελέσματα από τα τέλη της δεκαετίας του 1940 για τη θεραπεία του L.G.V. Αν και δεν έχει καθορισθεί η ακριβής δόση και διάρκεια της θεραπείας του L.G.V. με τετρακυκλίνες, οι περισσότεροι συνιστούν θεραπεία με τετρακυκλίνη 250 mg x 4 την ημέρα για τρεις εβδομάδες (Schachter και Dawson, 1978). Αυτό το σχήμα μπορεί να επαναληφθεί εάν η κλινική ανταπόκριση είναι μικρή.

Η πενικιλίνη, η στρεπτομυκίνη και η χλωραμφαινικόλη δεν είναι αποτελεσματικές έναντι του L.G.V. Η ερυθρομυκίνη, που έχει καλή in vitro δράση έναντι του *C. trachomatis*, πρέπει να είναι αποτελεσματική, δεν έχει όμως μελετηθεί εκτενώς για τη θεραπεία του L.G.V. Η κλινική ανταπόκριση στη θεραπεία με ριφαμπικίνη είναι καλή (Menke et al., 1979).

Αναρρόφηση του πύου των βουβωνικών αποστήματων πρέπει να γίνεται σε ορισμένες περιπτώσεις επειδή αλλιώς η ανταπόκριση στη θεραπεία είναι πτωχή. Σε ασθενείς με χρόνια νόσο του πρωκτού, που οφείλεται στους οροτύπους L₁-L₃ του *C. trachomatis* μπορεί ακόμα να χρειασθεί και χειρουργική επέμβαση.

8. Διαγνωστικά και θεραπευτικά προβλήματα

Απαραίτητη προϋπόθεση της σωστής θεραπείας των χλαμυδιακών λοιμώξεων είναι η ακριβής εργαστηριακή διάγνωση αυτών. Αρχικά, η μόνη μέθοδος εργαστηριακής διάγνωσης μιας τρέχουσας χλαμυδιακής λοίμωξης ήταν η απομόνωση σε καλλιέργειες κυττάρων. Επειδή η εφαρμογή της μεθόδου δεν ήταν δυνατή από όλα τα εργαστήρια λόγω

τεχνικών δυσκολιών και υψηλού κόστους υποδείχθηκαν τρόποι με τους οποίους η εξάρτηση από αυτή να είναι μικρότερη. Ορισμένοι κλινικοί προτείνουν να γίνεται θεραπεία με τετρακυκλίνη ή ερυθρομυκίνη σε άνδρες με N.G.U. και σε γυναίκες που έρχονται σ' επαφή με αυτούς χωρίς να είναι απαραίτητη η καλλιέργεια. Επίσης για την αντιμετώπιση του προβλήματος των μικτών λοιμώξεων με γονόκοκκο και χλαμύδια προτάθηκε η χορήγηση τετρακυκλίνης μαζί με την κλασσική θεραπεία της βλεννόρροιας.

Οι προτάσεις αυτές είναι σαφές ότι έγιναν για οικονομικούς λόγους χωρίς όμως να έχουν επιστημονική βάση. Στη μικροβιολογία υπάρχει μία βασική αρχή, ότι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που προκαλούν νόσο, πρέπει να τυποποιούνται και το *C. trachomatis* είναι ένας τέτοιος μικροοργανισμός. Ακόμη, επειδή η διάγνωση μπορεί να μην είναι ακριβής, δεν πρέπει να παραβλέπεται η αρχή "διάγνωση και μετά θεραπεία". Η τυφλή θεραπεία λοιμωδών νοσημάτων με αντιμικροβιακούς παράγοντες έχει καταδικασθεί τα τελευταία τριάντα χρόνια και δεν είναι σωστό να ξαναεισαχθεί, ειδικά για τη θεραπεία νοσημάτων που δεν έχουν διευκρινισθεί, όπως οι "μη ειδικές ουρηθρίτιδες" ή "μη ειδικές λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος", όταν μάλιστα είναι δυνατή η ακριβής διάγνωση και η κατάλληλη θεραπεία.

Μετά το 1982 κυκλοφορούν στο εμπόριο μονοκλωνικά αντισώματα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την άμεση αναζήτηση του *C. trachomatis* με τον ανοσοφθορισμό ή την ανοσοενζυματική μέθοδο σε παθολογικά υλικά. Οι μέθοδοι είναι απλές στην εφαρμογή, ταχείες και παρουσιάζουν υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία. Αν και δεν μπορούν να αντικαταστήσουν την απομόνωση σ' όλες τις περιπτώσεις, επειδή δεν μπορούν να εφαρμοσθούν για την εξέταση όλων των παθολογικών δειγμάτων, προσφέρουν μεγάλη βοήθεια στη διάγνωση και τη σωστή θεραπεία.



ΕΝΟΤΗΤΑ

Το παρόν αποτελεί μέρος της συλλογής των εγγράφων που έχουν συλλεχθεί από τον Υπουργό Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων, με σκοπό την προστασία της ιστορίας και της πολιτιστικής κληρονομιάς της χώρας.

Η εικόνα της παρούσας σελίδας αποτελεί αναπαραγωγή του πρωτότυπου εγγράφου, το οποίο βρίσκεται στην εθνική βιβλιοθήκη.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Το παρόν αποτελεί μέρος της συλλογής των εγγράφων που έχουν συλλεχθεί από τον Υπουργό Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων, με σκοπό την προστασία της ιστορίας και της πολιτιστικής κληρονομιάς της χώρας.

Η εικόνα της παρούσας σελίδας αποτελεί αναπαραγωγή του πρωτότυπου εγγράφου, το οποίο βρίσκεται στην εθνική βιβλιοθήκη.



ΣΚΟΠΟΣ

Την τελευταία 10ετία, η ανίχνευση αντισωμάτων έναντι της *C. trachomatis* έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη στην διάγνωση των χλαμυδιακών λοιμώξεων, εξαιτίας της δυσκολίας που παρουσιάζει ο υπεύθυνος μικροοργανισμός για καλλιέργεια και απομόνωση.

Η μέθοδος του ανοσοενζυμικού προσδιορισμού αντισωμάτων (ELISA) χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα. Η αυτοματοποίηση της μεθόδου επιτρέπει την ταυτόχρονη εξέταση μεγάλου αριθμού δειγμάτων.

Μέχρι σήμερα, η μέθοδος του ανοσοενζυμικού προσδιορισμού IgG, IgM και IgA αντισωμάτων έναντι της *C. trachomatis* δεν έχει χρησιμοποιηθεί στη χώρα μας για τη μελέτη της επιδημιολογίας της *C. trachomatis*.

Σκοπός αυτής της εργασίας υπήρξε η χρησιμοποίηση της ανοσοενζυμικής μεθόδου για τον προσδιορισμό IgG, IgM και IgA αντισωμάτων έναντι της *C. trachomatis*, ώστε να καταστεί δυνατή η διαπίστωση της συχνότητας των μολύνσεων και η επιδημιολογική αξιολόγηση της συχνότητας μολύνσεων με *C. trachomatis*, κατά φύλο και πενταετία ηλικίας στη χώρα μας.

ΥΛΙΚΟ

Για τον σκοπό αυτό εξετάσθηκαν με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA 1.400 δείγματα ορών, για την διαπίστωση IgG αντισωμάτων έναντι της *C. trachomatis*.

Τα θετικά δείγματα (τιμή απορρόφησης > ουδού) εξετάσθηκαν στη συνέχεια για την παρουσία IgM και IgA αντισωμάτων.

Η επιλογή των ατόμων από τα οποία ελήφθησαν τα δείγματα των ορών έγινε με τέτοιον τρόπο, ώστε να αντιστοιχούν ανά 50 δείγματα ορών για κάθε φύλο και για κάθε πενταετία από 1 έως 60 ετών, καθώς επίσης και για τις ομάδες ηλικίας 0 έως 6 μηνών και 7 έως 12 μηνών.

Η έναρξη συλλογής των δειγμάτων έγινε τον Φεβρουάριο του 1991 και ολοκληρώθηκε τον Φεβρουάριο του 1993.

Τα δείγματα των ορών ατόμων ηλικίας 0 έως 15 ετών, προέρχονται από παιδιά τα οποία νοσηλεύτηκαν στην Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, για διάφορες αιτίες εκτός χλαμυδιακών λοιμώξεων.

Οι οροί ατόμων ηλικίας 16-18 ετών ελήφθησαν από φαινομενικά υγιείς μαθητές και μαθήτριες του 1ου Επαγγελματικού Λυκείου Ιωαννίνων.

Οι οροί ατόμων ηλικίας 19-60 ετών προέρχονται από αιμοδότες, οι οποίοι προσήλθαν για εθελοντική αιμοδοσία στην υπηρεσία Αιμοδοσίας του ιδίου Νοσοκομείου, από το οποίο και ευγενώς μας παραχωρήθηκαν.



Όλα τα δείγματα των ορών διεμοιράζονταν σε μικρές ποσότητες και φυλάσσονταν σε κωνικά σωληνάρια τύπου Eppendorf, σε κατάψυξη - 20°C, μέχρι την εξέτασή των.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

A. Προσδιορισμός IgG αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis*

Για τον προσδιορισμό IgG-αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* χρησιμοποιήθηκε η σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων (kit) του οίκου VIROTECH, σύμφωνα με τις ένθετες οδηγίες του κατασκευαστή.

1. Αρχή της Μεθόδου

Η ανοσοενζυμική μέθοδος προσδιορισμού IgG-αντισωμάτων έναντι της *C. trachomatis* με την σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων του οίκου VIROTECH, είναι του τύπου στερεάς φάσης και βασίζεται στην παρακάτω αρχή.

Προαραιωμένα δείγματα ορών και κατάλληλοι μάρτυρες επωάζονται με αντιγόνο της *C. trachomatis* που είναι καθηλωμένο στον επίπεδο πυθμένα των φρεατίων μικροπλάκας τιτλοποίησης.

Τυχόν υπάρχοντα στα δείγματα αντισώματα έναντι της *C. trachomatis* συνδέονται με το καθηλωμένο στον πυθμένα αντιγόνο.

Μετά από αναρρόφηση του μη προσηλωθέντος υλικού και έπλυση των φρεατίων προστίθεται ενζυμικό σύζευγμα (Enzyme conjugate), το οποίο συνίσταται από ιχνοθετημένα με υπεροξειδάση αντισώματα έναντι ανθρώπινης ανοσφαιρίνης IgG.

Το ενζυμικό σύζευγμα, παρουσία αντισωμάτων (θετική αντίδραση), συνδέεται με αυτά και προσηλώνεται στον πυθμένα. Ακολουθεί αναρρόφηση του μη προσηλωθέντος υλικού και έπλυση των φρεατίων. Στη συνέχεια προστίθεται στα φρεάτια διάλυμα που περιέχει υπόστρωμα του ενζύμου (H_2O_2) και χρωμογόνο (ορθοφαινουλενοδιαμίνη).



Επί θετικής αντίδρασης ακολουθεί ενζυμική διάσπαση του υποστρώματος που ακολουθείται, από την εμφάνιση κίτρινο-πορτοκαλί χρώματος.

Η ένταση του χρώματος εξαρτάται από το ποσό των IgG αντισωμάτων του αντίστοιχου δείγματος έναντι *C. trachomatis*.

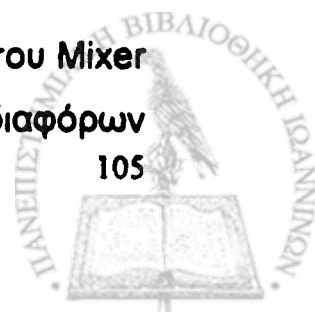
Η ενζυμική αντίδραση διακόπτεται με την προσθήκη 1M διαλύματος θειικού οξέος.

Οι τιμές οπτικής πυκνότητας των διαφόρων δειγμάτων μετρούνται σε μήκη κύματος 630nm και 492 nm.

2. Υλικό και Όργανα

Για την εκτέλεση των προσδιορισμών, χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υλικά και όργανα. Πλαστικά σωληνάρια των 3 ml από πολυστερίνη για την προαραίωση των ορών. Πλαστικά στατώ 50 θέσεων, 210X105X50 mm, Ø 13mm για τα παρακάτω σωληνάρια. Αυτόματες πιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου (varipette 10-100 μl και 100-1000μl) για την προσθήκη των διαφόρων αντιδραστηρίων. Πλαστικά ρύγχη μιας χρήσεως, κίτρινα 10-100 μl και μπλέ 100-1000 μl για τις παραπάνω πιπέτες. Αυτόματη πιπέττα πολλαπλής διανομής αντιδραστηρίων (multipette) για την ισόποση κατανομή των διαφόρων αντιδραστηρίων. Πλαστικές σύριγγες διανομής αντιδραστηρίων (combitips) των 2.5, 5.0 και 50ml για την παραπάνω πιπέττα. Οι σύριγγες αυτές, μετά από κάθε χρήση τους εκπλύνονταν με απιονισμένο νερό και φυλάσσονταν η κάθε μία χωριστά σε πλαστικά σακουλάκια, στα οποία αναγράφονταν το αντιδραστήριο για την διανομή του οποίου χρησιμοποιήθηκαν, ώστε να χρησιμοποιηθούν εκ νέου για το ίδιο αντιδραστήριο.

Αναδευτήρας τύπου Vortex (GENIE-2) και ανακινήτηρας τύπου Mixer (5432 Eppendorf) για την ανάδευση των δειγμάτων και των διαφόρων



αντιδραστηρίων. Επωαστικός θάλαμος (IPS DIAGNOSTICS Pasteur) για την επώαση των μικροπλακών αντίδρασης σε θερμοκρασία $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Αυτόματο σύστημα έκπλυσης των μικροπλακών (LP 10 DIAGNOSTICS Pasteur) αποτελούμενο από αντλία κενού, και φιάλες κενού των 2 λίτρων.

Φωτόμετρο (LP 200 DIAGNOSTICS Pasteur) για την μέτρηση της οπτικής πυκνότητας σε μήκη κύματος 492nm και 630nm με ενσωματωμένο ηλεκτρονικό υπολογιστή και συνδεδεμένο με εκτυπωτή (SEIKOSA sp-1200AI).

Επίσης χρησιμοποιήθηκαν ψυγεία 4°C και καταψύκτες -20°C για την διατήρηση των διαφόρων αντιδραστηρίων και δειγμάτων ορών, επιτραπέζια χρονόμετρα για την τήρηση του χρόνου επώασης, συσκευές παροχής αποσταγμένου και απιονισμένου νερού και διάφορα γυάλινα σκεύη τα οποία αποτελούν βασικό εξοπλισμό κάθε ορολογικού εργαστηρίου.

3. Αντιδραστήρια

Η σειρά ετοιμών τυποποιημένων αντιδραστηρίων (Elisa *Chlamydia trachomatis* του οίκου VIROTECH) περιλαμβάνει:

α) 12 κάθετες σειρές (strips) των 8 φρεατίων, στην επιφάνεια των οποίων έχει καθηλωθεί αντιγόνο *C. trachomatis*.

β) 4 φιαλίδια θετικού μάρτυρα (λυοφιλοποιημένος, ορός ανθρώπου με ειδικά IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*, σταθεροποιητές πρωτεϊνών και merthiolate σαν συντηρητικό).

γ) 1 φιαλίδιο αρνητικού μάρτυρα (λυοφιλοποιημένος ορός ανθρώπου αρνητικός για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*, με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και merthiolate σαν συντηρητικό).



δ) Φιάλη με 10ml αραιωτικό διάλυμα για τα δείγματα των ορών (συμπυκνωμένο (X10), φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα, pH 7,2 με Tween-20 και 0,01% merthiolate σαν συντηρητικό).

ε) Φιάλη με 50ml πλουστικό διάλυμα (συμπυκνωμένο (X20), PBS διάλυμα, pH 7,2 με Tween-20 και 0,01% merthiolate σαν συντηρητικό).

στ) Φιάλη με 10ml αραιωτικό διάλυμα για το χρωμογόνο (σύμπυκνωμένο φωσφορικό-κιτρικό ρυθμιστικό διάλυμα, pH 5,0).

ζ) 1 φιαλίδιο ενζυμικού συζεύγματος 150μl (αντιανθρώπιος αντι-IgG ορός από πρόβατο, ιχνοθετημένος με υπεροξειδάση σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και θυμόλη σαν συντηρητικό).

η) 6 δισκία χρωμογόνου OPD (3mg O-phenylendiamine. 2HCl/δισκίο).

θ) 1 φιαλίδιο με 200μl υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) 30% .

ι) 1 Φιάλη με 10ml 1M θειϊκού οξέος .

4. Τεχνική εκτέλεσης των προσδιορισμών

Πριν από κάθε εξέταση συμπληρωνόταν ειδικό πρωτόκολλο, στο οποίο περιλαμβάνονταν με προκαθορισμένη σειρά οι αρνητικοί μάρτυρες, οι θετικοί μάρτυρες, το τυφλό (blank) και τα προς εξέταση δείγματα.

Σύμφωνα με αυτό το πρωτόκολλο η εξέταση των θετικών μαρτύρων, των αρνητικών μαρτύρων, του blank και των δειγμάτων γίνονταν εις διπλούν.

Όλα τα προς χρήση αντιδραστήρια καθώς και τα προς εξέταση δείγματα ορών φέρονταν σε θερμοκρασία δωματίου.

Ακολουθούσε η αραιώση του συμπυκνωμένου αραιωτικού διαλύματος για τα δείγματα των ορών 1:10 καθώς και η αραιώση του

συμπυκνωμένου πλυστικού διαλύματος 1:20 και του συμπυκνωμένου αραιωτικού διαλύματος του χρωμογόνου 1:10 με αποσταγμένο νερό.

Εν συνεχεία προετοιμάζονταν, τα απαραίτητα για την προαραίωση των μαρτύρων και των δειγμάτων ορών, σωληνάρια και αριθμούνταν ανάλογα.

Ακολουθούσε η ενυδάτωση των λυοφιλοποιημένων μαρτύρων. Στο φιαλίδιο του αρνητικού IgG μάρτυρα, προστίθενταν 200 μl αποσταγμένου νερού και το φιαλίδιο του ανακινείται επί 30 λεπτά. Πριν την χρήση του αραιώνονταν 1:100 με αραιωτικό διάλυμα. Στο φιαλίδιο του θετικού IgG μάρτυρα, προστίθενταν 2 ml αραιωτικό διάλυμα και το φιαλίδιο ανακινείται επίσης επί 30 λεπτά.

Όλα τα δείγματα των προς εξέταση ορών αραιώνονταν 1:100 (10μl + 1000μl αραιωτικού διαλύματος) και αναδεύονταν σε Vortex.

Στα φρεάτια 1A και 1B μεταφερόταν 100 μl του προαραιωθέντος αρνητικού IgG μάρτυρα, στα φρεάτια 1C και 1D μεταφερόταν 100 μl θετικού IgG μάρτυρα και στα φρεάτια 1E και 1F μεταφερόταν 100 μl αραιωτικού διαλύματος για τα δείγματα των ορών (blank). Από το φρεάτιο 1G και 1H άρχιζε η τοποθέτηση των προαραιωμένων δειγμάτων ορών εις διπλούν.

Η μικροπλάκα καλυπτόταν και επωαζόταν για $1h \pm 2 \text{ min}$ στους $37 \pm 1^\circ\text{C}$ (πρώτη επώαση).

Λίγο πριν από το τέλος της πρώτης επώασης παρασκευαζόταν η αναγκαία ποσότητα αραίωσης του συζεύγματος με αραιωτικό διάλυμα για τα δείγματα των ορών. Η τιμή της αραίωσης διαφέρει από παρτίδα σε παρτίδα αντιδραστηρίων και δίδεται κάθε φορά στις οδηγίες που συμπεριλαμβάνονται στο kit από τον κατασκευαστή. Μετά το τέλος της πρώτης επώασης ακολουθούσε έκπλυση των φρεατίων της μικροπλάκας, 4 φορές με 300 μl αραιωμένου πλυστικού διαλύματος για



κάθε φρεάτιο στην συσκευή έκπλυσης. Μετά το τέλος της έκπλυσης οι μικροπλάκες τοποθετούνταν ανάστροφα πάνω σε απορροφητικό χαρτί για καλύτερη αποστράγγιση.

Εν συνεχεία, προστίθονταν 100μl του αραιωμένου συζεύγματος σε κάθε φρεάτιο.

Η μικροπλάκα καλυπτόταν και επωαζόταν στους $37 \pm 1^\circ\text{C}$ για 30 ± 1 min (δεύτερη επώαση).

Κατά την διάρκεια της δεύτερης επώασης παρασκευάζονταν η απαραίτητη ποσότητα διαλύματος χρωμογόνου σε σκούρα πλαστική φιάλη (2 δισκία OPD σε 20 ml προαραιωμένου διαλύματος για το χρωμογόνο για κάθε μικροπλάκα). Το διάλυμα αναδεύονταν ισχυρά σε Vortex και παρέμενε υπό συνεχή ανακίνηση (Mixer) μέχρι την χρήση του. Αμέσως πριν την χρήση προστίθονταν 10μl H_2O_2 (30%) και το διάλυμα αναδεύονταν ισχυρά.

Μετά το τέλος της δεύτερης επώασης ακολουθούσε έκπλυση των φρεατίων της μικροπλάκας 4 φορές και αποστράγγιση όπως και προυγουμένως.

Αμέσως, μετά την παρασκευή του διαλύματος ενζυμικού υποστρώματος-χρωμογόνου, διανέμονταν γρήγορα ανά 100μl σ' όλα τα φρεάτια. Κατά την διαδικασία αυτή αποφεύγονταν ο άμεσος φυσικός φωτισμός.

Η μικροπλάκα καλυπτόταν και επωαζόταν στους $37 \pm 1^\circ\text{C}$ για 15 ± 1 min (τρίτη επώαση).

Μετά το τέλος και της τρίτης επώασης προστίθονταν, με την ίδια σειρά που ακολουθήθηκε και για την προσθήκη του διαλύματος χρωμογόνου-ενζυμικού υποστρώματος, 50 μl διαλύματος 1M H_2SO_4 σε κάθε φρεάτιο για να σταματήσει η ενζυμική δράση.

Εντός το αργότερο 30' λεπτών από την προσθήκη του θειικού οξέος η μικροπλάκα τοποθετούνταν στην ειδική θέση του φωτομέτρου, για την μέτρηση των τιμών οπτικής πυκνότητας σε δύο μήκη κύματος 492 και 620nm, η οποία πραγματοποιείτο με ειδικό πρόγραμμα (πρόγραμμα Νο 2).

Για καθένα από τα δύο δείγματα, του θετικού και αρνητικού μάρτυρα, του τυφλού και των ορών, οι αντιστοιχούσες στα δύο μήκη κύματος τιμές οπτικής πυκνότητας καθώς και η διαφορά τους Δ καταγράφονται χωριστά από τον συνδεδεμένο με το φωτόμετρο εκτυπωτή.

Εν συνεχεία υπολογίζεται η μέση τιμή της διαφοράς των τιμών των οπτικών πυκνοτήτων Δ ($OD_{492}-OD_{620}$) των εκάστοτε δύο εξετασθέντων δειγμάτων από τον θετικό και αρνητικό μάρτυρα, το τυφλό και τα δείγματα των ορών.

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων είναι τότε μόνο εφικτή, αν η Δ του τυφλού μάρτυρα δεν υπερβαίνει το 0,100 ($\Delta < 0,100$), η Δ του αρνητικού IgG μάρτυρα δεν υπερβαίνει το 0,150 ($\Delta < 0,150$), και η Δ του θετικού IgG μάρτυρα είναι μεγαλύτερη από αυτή που αναφέρεται κάθε φορά στις ένθετες οδηγίες του κατασκευαστή.

Επίσης τα αποτελέσματα δεν μπορούν να αξιολογηθούν εάν η διαφορά μεταξύ της Δ του θετικού IgG μάρτυρα και της Δ του αρνητικού IgG μάρτυρα δεν είναι μεγαλύτερη από 0,300.

Η τιμή ουδού (cut-off) υπολογίζεται από την Δ του αρνητικού IgG μάρτυρα με την προσθήκη ενός συντελεστή (cut-off factor) ο οποίος αναγράφεται πάντοτε στο φιαλίδιο του αρνητικού IgG μάρτυρα.



Παράδειγμα

$$OD_1 492 = 1,024$$

$$OD_2 492 = 1,045$$

$$OD_1 620 = 0,086$$

$$OD_2 620 = 0,092$$

$$\Delta_1 = OD_1 492 - OD_1 620 = 0,938$$

$$\Delta_2 = OD_2 492 - OD_2 620 = 0,953$$

$$\Delta = \Delta_1 + \Delta_2 / 2 = 0,945$$

Σαν βέβαια θετικά χαρακτηρίζονταν τα δείγματα των οποίων η Δ ήταν κατά 10% ή περισσότερο μεγαλύτερη από την τιμή του ουδού.

Τα δείγματα των ορών των οποίων η Δ ήταν κατά 10% ή περισσότερο μικρότερη της τιμής του ουδού, χαρακτηρίζονταν ως βέβαια αρνητικά.

Όλα τα άλλα δείγματα των οποίων η Δ κυμαίνονταν μεταξύ +10% και -10% (gray zone) της τιμής του ουδού χαρακτηρίζονταν σαν αμφίβολα και επανεξετάζονταν.

Εάν κατά την επαναληπτική εξέταση η Δ ήταν μεγαλύτερη ή μικρότερη της τιμής ουδού, τότε τα δείγματα χαρακτηρίζονταν ως θετικά ή αρνητικά ανεξάρτητα από το αν η τιμή αυτή δεν υπερέβαινε το 10% της τιμής ουδού ή υπολείπονταν λιγότερο από 10% από αυτή.

Όλα τα θετικά δείγματα επανεξετάσθηκαν με μία άλλη σειρά αντιδραστηρίων, εις διπλούν για την επιβεβαίωση του θετικού αποτελέσματος.



B. Προσδιορισμός IgM και IgA αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis*.

Για τον προσδιορισμό IgM και IgA-αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* χρησιμοποιήθηκε η σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων, του οίκου VIROTECH, σύμφωνα με τις ένθετες οδηγίες του κατασκευαστή.

1. Αρχή της Μεθόδου

Η ανοσοενζυμική μέθοδος προσδιορισμού IgM και IgA-αντισωμάτων έναντι της *C. trachomatis* με την σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων του οίκου VIROTECH, είναι του τύπου στερεάς φάσης και βασίζεται ακριβώς στην ίδια αρχή με αυτή που περιγράφηκε για τον προσδιορισμό των IgG αντισωμάτων με τα αντιδραστήρια του ίδιου οίκου.

2. Υλικό και Όργανα

Για την εκτέλεση αυτών των προσδιορισμών χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια ακριβώς όργανα και υλικά, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν και για τον προσδιορισμό των IgG αντισωμάτων. Επί πλέον, χρησιμοποιήθηκε μία επιτραπέζιος φυγόκεντρος τύπου Eppendorf, με την οποία φυγοκεντρούνταν τα δείγματα των ορών μετά από επεξεργασία τους με τον παράγοντα απορρόφησης RF/IgG.

3. Αντιδραστήρια

σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων (Elisa *Chlamydia trachomatis* του οίκου VIROTECH) περιλαμβάνει:

α) 12 κάθετες σειρές (strips) των 8 φρεατίων, στην επιφάνεια των οποίων έχει καθηλωθεί αντιγόνο *C. trachomatis*.



β) 4 φιαλίδια θετικού IgM μάρτυρα (λυοφιλοποιημένος, ορός ανθρώπου με ειδικά IgM αντισώματα έναντι *C. trachomatis*, σταθεροποιητές πρωτεϊνών και merthiolate σαν συντηρητικό).

γ) 4 φιαλίδια θετικού IgA μάρτυρα (λυοφιλοποιημένος, ορός ανθρώπου με ειδικά IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis*, σταθεροποιητές πρωτεϊνών και merthiolate σαν συντηρητικό).

δ) 1 φιαλίδιο αρνητικού IgM μάρτυρα (λυοφιλοποιημένος ορός ανθρώπου αρνητικός για IgM αντισώματα έναντι *C. trachomatis*, με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και merthiolate σαν συντηρητικό).

ε) 1 φιαλίδιο αρνητικού IgA μάρτυρα (λυοφιλοποιημένος ορός ανθρώπου αρνητικός για IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis*, με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και merthiolate σαν συντηρητικό).

στ) Φιάλη με 10ml αραιωτικό διάλυμα για τα δείγματα των ορών (συμπυκνωμένο (X10), φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα, pH 7,2 με Tween-20 και 0,01% merthiolate σαν συντηρητικό).

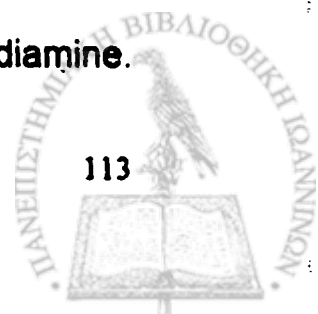
ζ) Φιάλη με 50ml πλουστικό διάλυμα (συμπυκνωμένο (X20), PBS διάλυμα, pH 7,2 με Tween-20 και 0,01% merthiolate σαν συντηρητικό).

η) Φιάλη με 10ml αραιωτικό διάλυμα για το χρωμογόνο (συμπυκνωμένο φωσφορικό-κιτρικό ρυθμιστικό διάλυμα, pH 5,0).

θ) 1 φιαλίδιο ενζυμικού συζεύγματος 150μl (αντιανθρώπειος αντι-IgM ορός από πρόβατο, ιχνοθετημένος με υπεροξειδάση σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και θυμόλη σαν συντηρητικό).

ι) 1 φιαλίδιο ενζυμικού συζεύγματος 150μl (αντιανθρώπειος αντι-IgM ορός από πρόβατο, ιχνοθετημένος με υπεροξειδάση σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και θυμόλη σαν συντηρητικό).

κ) 6 δισκία χρωμογόνου OPD (3mg O-phenylendiamine. 2HCl/δισκίο).



λ) 1 φιαλίδιο με 200ml υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) 30% .

μ) 1 Φιάλη με 10ml 1M θειϊκού οξέος .

Εκτός από τα παραπάνω αντιδραστήρια χρησιμοποιήθηκε, για την προσρόφηση του ρευματοειδή παράγοντα, Πρωτεΐνη Α σεφαρόζη (φιαλίδια των 200ml της ίδιας εταιρίας).

4. Τεχνική εκτέλεσης των προσδιορισμών

Ο προσδιορισμός IgM και IgA αντισωμάτων γίνονταν μόνο στα δείγματα των ορών που ήταν θετικά για IgG αντισώματα.

Πριν από κάθε εξέταση συμπληρωνόταν ειδικό πρωτόκολλο, στο οποίο περιλαμβάνονταν με προκαθορισμένη σειρά οι αρνητικοί μάρτυρες, οι θετικοί μάρτυρες, το τυφλό (blank) και τα προς εξέταση δείγματα. Συγκεκριμένα οι 6 πρώτες σειρές φρεατίων χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση IgM αντισωμάτων και οι 6 υπόλοιπες για την ανίχνευση IgA αντισωμάτων συγχρόνως.

Σύμφωνα με αυτό το πρωτόκολλο η εξέταση των αντιστοιχών θετικών IgM ή IgA μαρτύρων καθώς και των αρνητικών μαρτύρων, του blank και των δειγμάτων τών ορών γίνονταν εις διπλούν.

Όλα τα προς χρήση αντιδραστήρια καθώς και τα προς εξέταση δείγματα ορών φέρονταν σε θερμοκρασία δωματίου.

Ακολουθούσε η αραίωση του συμπυκνωμένου αραιωτικού διαλύματος για τα δείγματα των ορών 1:10 καθώς και η αραίωση του συμπυκνωμένου πλυστικού διαλύματος 1:20 και του συμπυκνωμένου αραιωτικού διαλύματος του χρωμογόνου 1:10 με αποσταγμένο νερό.

Εν συνεχεία προετοιμάζονταν, τα απαραίτητα για την προαραίωση των μαρτύρων και των δειγμάτων ορών, σωληνάρια και αριθμούνταν ανάλογα.



Σε 200μl πρωτεΐνης A σεφαρόζης προστίθονταν 10μl κάθε δείγματος ορού. Ακολουθούσε καλή ανάδευση και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου επί 30' λεπτά. Μετά γίνονταν φυγοκέντρηση του μίγματος για 10 min στις 3000 στροφές. Το υπερκείμενο αραιώνονταν 1:4 (100μl του δείγματος και 400μl αραιωτικού διαλύματος) και αναδεύονταν σε Vortex.

Ακολουθούσε η ενυδάτωση των λυοφιλοποιημένων μαρτύρων. Στα φιαλίδια του αρνητικού IgM μάρτυρα και του αρνητικού IgA μάρτυρα προστίθονταν 200 μl αποσταγμένου νερού και τα φιαλίδια ανακινούνταν επί 30' λεπτά. Πριν την χρησιμοποίησή τους αραιώνονταν 1:100 με αραιωτικό διάλυμα, προστίθονταν 2 ml αραιωτικό διάλυμα και τα φιαλίδια ανακινούνταν επίσης επί 30 λεπτά.

Στα φρεάτια 1A και 1B μεταφερόταν 100 μl του προαραιωμένου αρνητικού IgM μάρτυρα, στα φρεάτια 1C και 1D μεταφερόταν 100 μl θετικού IgM μάρτυρα και στα φρεάτια 1E και 1F μεταφερόταν 100 μl αραιωτικού διαλύματος για τα δείγματα των ορών (blank). Από το φρεάτιο 1G και 1H άρχιζε η τοποθέτηση των προαραιωμένων δειγμάτων ορών εις διπλούν για την διαπίστωση IgM αντισωμάτων.

Στα φρεάτια 7A και 7B μεταφερόταν 100 μl του προαραιωμένου αρνητικού IgA μάρτυρα, στα φρεάτια 7C και 7D μεταφερόταν 100 μl θετικού IgA μάρτυρα και στα φρεάτια 7E και 7F μεταφερόταν 100 μl αραιωτικού διαλύματος για τα δείγματα των ορών (blank). Από το φρεάτιο 7G και 7H άρχιζε η τοποθέτηση των προαραιωμένων δειγμάτων ορών εις διπλούν, για την διαπίστωση IgA αντισωμάτων.

Η μικροπλάκα καλυπτόταν και επωαζόταν για 1ώρα ± 2 λεπτά στους $37 \pm 1^\circ\text{C}$ (πρώτη επώαση).

Λίγο πριν από το τέλος της πρώτης επώασης παρασκευαζόταν η αναγκαία ποσότητα αραιώσεως του αντίστοιχου για κάθε είδος



αντισωμάτων συζεύγματος με αραιωτικό διάλυμα. Η τιμή της αραιώσης διαφέρει από παρτίδα σε παρτίδα αντιδραστηρίων και δίδεται κάθε φορά στις οδηγίες που συμπεριλαμβάνονται στο kit από τον κατασκευαστή. Μετά το τέλος της πρώτης επώασης ακολουθούσε έκπλυση των φρεατίων της μικροπλάκας 4 φορές με 300 ml αραιωμένου πλυστικού διαλύματος για κάθε φρεάτιο στην συσκευή έκπλυσης. Μετά το τέλος της έκπλυσης οι μικροπλάκες τοποθετούνταν ανάστροφα πάνω σε διηθητικό χαρτί για καλύτερη αποστράγγιση.

Εν συνεχεία, προστίθονταν 100ml του αντίστοιχου για κάθε είδος αντισωμάτων αραιωμένου συζεύγματος σε κάθε φρεάτιο.

Η μικροπλάκα καλυπτόταν και επωαζόταν στους $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ για 30 ± 1 min (δεύτερη επώαση).

Κατά την διάρκεια της δεύτερης επώασης παρασκευάζονταν η απαραίτητη ποσότητα διαλύματος χρωμογόνου σε σκούρα πλαστική φιάλη (2 δισκία OPD σε 20 ml προαραιωμένου διαλύματος για το χρωμογόνο για κάθε μικροπλάκα). Το διάλυμα αναδεύονταν ισχυρά σε Vortex και παρέμενε υπό συνεχή ανακίνηση (Mixer) μέχρι την χρήση του. Αμέσως πριν την χρήση προστίθονταν 10ml H_2O_2 (30%) και το διάλυμα αναδεύονταν ισχυρά.

Μετά το τέλος της δεύτερης επώασης ακολουθούσε έκπλυση των φρεατίων της μικροπλάκας 4 φορές και αποστράγγιση όπως και προουμμένως.

Αμέσως, μετά την παρασκευή του διαλύματος ενζυμικού υποστρώματος-χρωμογόνου, διανέμονταν γρήγορα ανά 100ml σ' όλα τα φρεάτια. Κατά την διαδικασία αυτή αποφεύγονταν ο άμεσος φυσικός φωτισμός.

Η μικροπλάκα καλυπτόταν και επωαζόταν στους $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ για 15 ± 1 min (τρίτη επώαση).



Μετά το τέλος και της τρίτης επώασης προστίθονταν, με την ίδια σειρά που ακολουθήθηκε και για την προσθήκη του διαλύματος χρωμογόνου-ενζυμικού υποστρώματος, 50 μl διαλύματος 1M H₂SO₄ σε κάθε φρεάτιο για να σταματήσει η ενζυμική δράση.

Εντός το αργότερο 30' λεπτών από την προσθήκη του θειικού οξέος η μικροπλάκα τοποθετούνταν στην ειδική θέση του φωτομέτρου, για την μέτρηση των τιμών οπτικής πυκνότητας σε δύο μήκη κύματος 492 (OD₁) και 620nm (OD₂), η οποία πραγματοποιείτο με ειδικό πρόγραμμα (πρόγραμμα No 2).

Οι αντιστοιχούσες στα δύο μήκη κύματος τιμές οπτικής πυκνότητας καθώς και η διαφορά τους Δ καταγράφονταν από τον συνδεδεμένο με το φωτόμετρο εκτυπωτή.

Για όλους τους μάρτυρες καθώς και για τα δείγματα των προς εξέταση ορών υπολογίζονταν η μέση τιμή Δ των διαφορών Δ των τιμών OD₁ και OD₂.

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων είναι τότε μόνο εφικτή, αν η Δ του τυφλού μάρτυρα δεν υπερβαίνει το 0,100 (Δ<0,100), η Δ του αρνητικού IgM και IgA μάρτυρα δεν υπερβαίνει το 0,150 (Δ<0,150), και η Δ του θετικού IgM και IgA μάρτυρα είναι μεγαλύτερη από αυτή που αναφέρεται κάθε φορά στις ένθετες οδηγίες του κατασκευαστή.

Επίσης τα αποτελέσματα δεν μπορούν να αξιολογηθούν εάν η διαφορά, της μέσης τιμής των διαφορών των τιμών των οπτικών πυκνοτήτων του θετικού IgM και IgA μάρτυρα και της μέσης τιμής των διαφορών των τιμών των οπτικών πυκνοτήτων του αρνητικού IgM και IgA μάρτυρα δεν είναι μεγαλύτερη από 0,300.

Η τιμή ουδού (cut-off) υπολογίζεται από την μέση τιμή της διαφοράς των τιμών της οπτικής πυκνότητας του αρνητικού IgM και IgA μάρτυρα

με την προσθήκη ενός συντελεστή (cut-off factor) ο οποίος αναγράφεται πάντοτε στο φιαλίδιο του αρνητικού IgM και IgA μάρτυρα.

Σαν βέβαια θετικά χαρακτηρίζονταν τα δείγματα των οποίων η Δ ήταν κατά 10% ή περισσότερο μεγαλύτερη από την τιμή του ουδού.

Τα δείγματα των ορών των οποίων η Δ ήταν κατά 10% ή περισσότερο μικρότερη της τιμής του ουδού, χαρακτηρίζονταν ως βέβαια αρνητικά.

Όλα τα άλλα δείγματα των οποίων η Δ κυμαίνονταν μεταξύ +10% και -10% (gray zone) της τιμής του ουδού χαρακτηρίζονταν σαν αμφίβολα και επανεξετάζονταν.

Εάν κατά την επαναληπτική εξέταση η Δ ήταν μεγαλύτερη ή μικρότερη της τιμής ουδού, τότε τα δείγματα χαρακτηρίζονταν ως θετικά ή αρνητικά ανεξάρτητα από το αν η τιμή αυτή δεν υπερέβαινε το 10% της τιμής ουδού ή υπολείπονταν λιγότερο από 10% από αυτή.

Όλα τα θετικά δείγματα επανεξετάσθηκαν με μία άλλη σειρά αντιδραστηρίων, εις διπλούν για την επιβεβαίωση του θετικού αποτελέσματος.



ΠΙΝΑΚΑΣ 1
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 0 έως 5 μηνών

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	1 ημερ	-			26	2.5 μην.	-		
2	1 ημερ	+	-	-	27	2.5 μην.	-		
3	3 ημερ	-			28	3 μην.	-		
4	6 ημερ	+	-	-	29	3 μην.	+	-	-
5	6 ημερ	+	-	-	30	3 μην.	-		
6	15 ημερ	-			31	3 μην.	-		
7	18 ημερ	-			32	3 μην.	-		
8	19 ημερ	-			33	3 μην.	-		
9	30 ημερ	-			34	3 μην.	-		
10	30 ημερ	-			35	3.5 μην.	-		
11	32 ημερ	-			36	3.5 μην.	+	-	-
12	35 ημερ	-			37	4 μην.	-		
13	38 ημερ	-			38	4 μην.	-		
14	45 ημερ	-			39	4 μην.	+	-	-
15	2 μην.	-			40	4 μην.	-		
16	2 μην.	-			41	4 μην.	-		
17	2 μην.	-			42	4.5 μην.	-		
18	2 μην.	-			43	4.5 μην.	-		
19	2 μην.	-			44	5 μην.	-		
20	2 μην.	-			45	5 μην.	-		
21	2 μην.	-			46	5 μην.	-		
22	2 μην.	-			47	5 μην.	-		
23	2 μην.	-			48	5 μην.	-		
24	2 μην.	+	-	-	49	5 μην.	-		
25	2.5 μην.	-			50	5 μην.	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 2
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 0 έως 5 μηνών

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	1 ημερ	-			26	2 μην.	-		
2	1 ημερ	+	-	-	27	2 μην.	-		
3	2 ημερ	-			28	2 μην.	+	-	-
4	3 ημερ	-			29	2 μην.	-		
5	4 ημερ	-			30	2.5 μην.	-		
6	8 ημερ	-			31	2.5 μην.	-		
7	9 ημερ	-			32	2.5 μην.	-		
8	10 ημερ	-			33	2.5 μην.	-		
9	15 ημερ	-			34	2.5 μην.	+	-	-
10	15 ημερ	+	-	-	35	3 μην.	-		
11	16 ημερ	-			36	3 μην.	-		
12	18 ημερ	-			37	3 μην.	-		
13	1 μην.	-			38	3 μην.	-		
14	1 μην.	-			39	3 μην.	-		
15	1 μην.	-			40	3.5 μην.	-		
16	1 μην.	-			41	3.5 μην.	-		
17	1 μην.	-			42	4 μην.	-		
18	1 μην.	-			43	4 μην.	+	-	-
19	1.5 μην.	-			44	4 μην.	+	-	-
20	1.5 μην.	+	-	+	45	4 μην.	+	-	-
21	2 μην.	+	-	-	46	4 μην.	+	-	-
22	2 μην.	-			47	4 μην.	-		
23	2 μην.	-			48	5 μην.	-		
24	2 μην.	-			49	5 μην.	-		
25	2 μην.	-			50	5 μην.	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 3

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 6 έως 12 μηνών

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	6 μην.	-			26	9 μην.	-		
2	6 μην.	-			27	8.5 μην.	-		
3	6 μην.	-			28	9 μην.	+	-	-
4	6 μην.	-			29	9 μην.	-		
5	6 μην.	-			30	10 μην.	-		
6	6 μην.	-			31	10 μην.	-		
7	6 μην.	+	+	-	32	10 μην.	-		
8	7 μην.	+	-	-	33	10 μην.	-		
9	7 μην.	-			34	9.5 μην.	-		
10	7 μην.	-			35	10 μην.	-		
11	7 μην.	-			36	10 μην.	-		
12	7 μην.	-			37	11 μην.	-		
13	7 μην.	-			38	11 μην.	-		
14	7 μην.	+	+	-	39	11 μην.	-		
15	8 μην.	-			40	11 μην.	-		
16	8 μην.	-			41	11 μην.	-		
17	8 μην.	-			42	11 μην.	-		
18	8 μην.	-			43	11 μην.	-		
19	8 μην.	-			44	12 μην.	-		
20	8 μην.	-			45	12 μην.	-		
21	8 μην.	-			46	12 μην.	-		
22	8 μην.	+	+	+	47	12 μην.	-		
23	9 μην.	-			48	12 μην.	-		
24	9 μην.	-			49	12 μην.	-		
25	9 μην.	-			50	12 μην.	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 4
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 6 έως 12 μηνών

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	6 μην.	-			26	10 μην.	-		
2	6 μην.	-			27	10 μην.	-		
3	6 μην.	-			28	10 μην.	-		
4	6 μην.	-			29	10 μην.	-		
5	6 μην.	+	-	+	30	10 μην.	-		
6	7 μην.	-			31	10 μην.	-		
7	7 μην.	+	+	-	32	10 μην.	+	-	-
8	7 μην.	-			33	11 μην.	-		
9	7 μην.	+	+	-	34	11 μην.	-		
10	7 μην.	-			35	11 μην.	-		
11	7.5 μην.	-			36	11 μην.	-		
12	8 μην.	-			37	11 μην.	-		
13	8 μην.	-			38	11 μην.	-		
14	8 μην.	-			39	11 μην.	-		
15	8 μην.	-			40	11 μην.	-		
16	8 μην.	-			41	11 μην.	-		
17	8 μην.	-			42	12 μην.	-		
18	8 μην.	-			43	12 μην.	-		
19	8.5 μην.	-			44	12 μην.	-		
20	9 μην.	-			45	12 μην.	-		
21	9 μην.	-			46	12 μην.	-		
22	9 μην.	-			47	12 μην.	-		
23	9 μην.	+	+	+	48	12 μην.	-		
24	10 μην.	-			49	12 μην.	+	-	-
25	10 μην.	-			50	12 μην.	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 5
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 1 έως 5 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	13 μην.	-			26	3 ετών	-		
2	14 μην.	-			27	3 ετών	-		
3	14 μην.	-			28	3 ετών	-		
4	15 μην.	-			29	3 ετών	-		
5	16 μην.	-			30	3.5 ετών	-		
6	17 μην.	-			31	3.5 ετών	-		
7	18 μην.	-			32	4 ετών	-		
8	18 μην.	-			33	4 ετών	-		
9	18 μην.	-			34	4 ετών	-		
10	20 μην.	-			35	4 ετών	-		
11	20 μην.	+	+	-	36	4 ετών	-		
12	2 ετών	-			37	4 ετών	-		
13	2 ετών	+	-	-	38	4 ετών	-		
14	2 ετών	-			39	4 ετών	-		
15	2 ετών	-			40	4.5 ετών	-		
16	2 ετών	-			41	4.5 ετών	-		
17	2.5 ετών	+	-	+	42	4.5 ετών	-		
18	2.5 ετών	-			43	5 ετών	-		
19	2.5 ετών	-			44	5 ετών	-		
20	2.5 ετών	-			45	5 ετών	-		
21	2.5 ετών	-			46	5 ετών	-		
22	3 ετών	-			47	5 ετών	-		
23	3 ετών	-			48	5 ετών	-		
24	3 ετών	-			49	5 ετών	-		
25	3 ετών	-			50	5 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 6
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 1 έως 5 ετών.

a/a	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	a/a	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	14 μην.	-			26	3 ετών	-		
2	14 μην.	-			27	3 ετών	-		
3	15 μην.	-			28	3 ετών	-		
4	17 μην.	-			29	3 ετών	-		
5	17 μην.	-			30	3 ετών	-		
6	18 μην.	-			31	3.5 ετών	-		
7	18 μην.	+	+	-	32	3.5 ετών	-		
8	20 μην.	-			33	3.5 ετών	-		
9	21 μην.	-			34	4 ετών	+	+	-
10	22 μην.	-			35	4 ετών	-		
11	2 ετών	-			36	4 ετών	-		
12	2 ετών	-			37	4 ετών	-		
13	2 ετών	+	-	-	38	4 ετών	-		
14	2 ετών	-			39	4 ετών	-		
15	2 ετών	-			40	4 ετών	-		
16	2 ετών	-			41	5 ετών	-		
17	2 ετών	-			42	5 ετών	-		
18	2.5 ετών	-			43	5 ετών	-		
19	2.5 ετών	-			44	5 ετών	-		
20	2.5 ετών	-			45	5 ετών	-		
21	2.5 ετών	-			46	5 ετών	-		
22	2.5 ετών	-			47	5 ετών	-		
23	2.5 ετών	-			48	5 ετών	-		
24	3 ετών	-			49	5 ετών	-		
25	3 ετών	+	-	-	50	5 ετών	+	-	-



ΠΙΝΑΚΑΣ 7

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 6 έως 10 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	6 ετών	-			26	8 ετών	-		
2	6 ετών	-			27	8 ετών	-		
3	6 ετών	-			28	8 ετών	-		
4	6 ετών	-			29	8 ετών	-		
5	6 ετών	+	-	-	30	8 ετών	-		
6	6 ετών	-			31	9 ετών	-		
7	6 ετών	-			32	9 ετών	-		
8	6 ετών	-			33	9 ετών	-		
9	6 ετών	-			34	9 ετών	-		
10	6 ετών	-			35	9 ετών	-		
11	7 ετών	-			36	9 ετών	-		
12	7 ετών	-			37	9 ετών	-		
13	7 ετών	-			38	9 ετών	-		
14	7 ετών	-			39	9 ετών	-		
15	7 ετών	-			40	9 ετών	-		
16	7 ετών	-			41	10 ετών	+	+	-
17	7 ετών	-			42	10 ετών	-		
18	7 ετών	-			43	10 ετών	-		
19	7 ετών	-			44	10 ετών	-		
20	7 ετών	-			45	10 ετών	-		
21	8 ετών	+	-	-	46	10 ετών	-		
22	8 ετών	-			47	10 ετών	-		
23	8 ετών	-			48	10 ετών	-		
24	8 ετών	-			49	10 ετών	-		
25	8 ετών	-			50	10 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 8
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
***C. trachomatis* σε Θήλεα άτομα ηλικίας 6 έως 10 ετών.**

a/a	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	a/a	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	6 ετών	-			26	8 ετών	-		
2	6 ετών	-			27	8 ετών	-		
3	6 ετών	-			28	8 ετών	+	+	-
4	6 ετών	-			29	8 ετών	-		
5	6 ετών	-			30	8 ετών	-		
6	6 ετών	-			31	9 ετών	-		
7	6 ετών	-			32	9 ετών	-		
8	6 ετών	-			33	9 ετών	-		
9	6 ετών	-			34	9 ετών	-		
10	6 ετών	-			35	9 ετών	-		
11	7 ετών	-			36	9 ετών	-		
12	7 ετών	-			37	9 ετών	-		
13	7 ετών	-			38	9 ετών	-		
14	7 ετών	-			39	9 ετών	-		
15	7 ετών	+	-	-	40	9 ετών	-		
16	7 ετών	-			41	10 ετών	-		
17	7 ετών	-			42	10 ετών	-		
18	7 ετών	-			43	10 ετών	-		
19	7 ετών	-			44	10 ετών	+	-	-
20	7 ετών	-			45	10 ετών	-		
21	8 ετών	-			46	10 ετών	-		
22	8 ετών	-			47	10 ετών	-		
23	8 ετών	-			48	10 ετών	-		
24	8 ετών	-			49	10 ετών	-		
25	8 ετών	-			50	10 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 9

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 11 έως 15 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	11 ετών	-			26	13 ετών	-		
2	11 ετών	-			27	13 ετών	+	+	+
3	11 ετών	-			28	13 ετών	-		
4	11 ετών	-			29	13 ετών	-		
5	11 ετών	-			30	13 ετών	-		
6	11 ετών	-			31	13 ετών	-		
7	11 ετών	-			32	14 ετών	-		
8	11 ετών	-			33	14 ετών	-		
9	11 ετών	-			34	14 ετών	+	-	-
10	11 ετών	-			35	14 ετών	-		
11	12 ετών	-			36	14 ετών	-		
12	12 ετών	-			37	14 ετών	-		
13	12 ετών	-			38	14 ετών	-		
14	12 ετών	-			39	14 ετών	-		
15	12 ετών	-			40	14 ετών	-		
16	12 ετών	-			41	14 ετών	-		
17	12 ετών	-			42	15 ετών	-		
18	12 ετών	-			43	15 ετών	+	+	-
19	12 ετών	-			44	15 ετών	-		
20	12 ετών	-			45	15 ετών	-		
21	13 ετών	-			46	15 ετών	-		
22	13 ετών	-			47	15 ετών	-		
23	13 ετών	-			48	15 ετών	-		
24	13 ετών	-			49	15 ετών	-		
25	13 ετών	-			50	15 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 10
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 11 έως 15 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	11 ετών	-			26	13 ετών	-		
2	11 ετών	-			27	13 ετών	-		
3	11 ετών	+	-	+	28	13 ετών	-		
4	11 ετών	-			29	13 ετών	-		
5	11 ετών	-			30	13 ετών	+	-	-
6	11 ετών	-			31	13 ετών	-		
7	11 ετών	-			32	13 ετών	-		
8	11 ετών	-			33	13 ετών	-		
9	11 ετών	-			34	14 ετών	-		
10	11 ετών	-			35	14 ετών	-		
11	11 ετών	-			36	14 ετών	-		
12	12 ετών	-			37	14 ετών	-		
13	12 ετών	-			38	14 ετών	+	-	-
14	12 ετών	-			39	14 ετών	-		
15	12 ετών	-			40	14 ετών	-		
16	12 ετών	-			41	14 ετών	-		
17	12 ετών	+	+	+	42	14 ετών	-		
18	12 ετών	-			43	14 ετών	-		
19	12 ετών	+	+	-	44	15 ετών	-		
20	12 ετών	-			45	15 ετών	-		
21	12 ετών	-			46	15 ετών	-		
22	12 ετών	-			47	15 ετών	-		
23	12 ετών	-			48	15 ετών	-		
24	13 ετών	-			49	15 ετών	-		
25	13 ετών	-			50	15 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 11

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 16 έως 20 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	16 ετών	-			26	18 ετών	+	-	-
2	16 ετών	-			27	18 ετών	-		
3	16 ετών	-			28	18 ετών	-		
4	16 ετών	-			29	19 ετών	-		
5	16 ετών	-			30	19 ετών	-		
6	16 ετών	-			31	19 ετών	-		
7	16 ετών	+	+	-	32	19 ετών	-		
8	16 ετών	+	-	+	33	19 ετών	-		
9	16 ετών	-			34	19 ετών	-		
10	16 ετών	-			35	19 ετών	-		
11	17 ετών	-			36	19 ετών	-		
12	17 ετών	+	+	+	37	19 ετών	-		
13	17 ετών	+	+	+	38	19 ετών	-		
14	17 ετών	-			39	19 ετών	-		
15	17 ετών	-			40	20 ετών	-		
16	17 ετών	-			41	20 ετών	-		
17	17 ετών	-			42	20 ετών	-		
18	17 ετών	-			43	20 ετών	-		
19	17 ετών	-			44	20 ετών	-		
20	18 ετών	-			45	20 ετών	-		
21	18 ετών	-			46	20 ετών	-		
22	18 ετών	-			47	20 ετών	-		
23	18 ετών	+	-	-	48	20 ετών	-		
24	18 ετών	-			49	20 ετών	-		
25	18 ετών	-			50	20 ετών	+	+	-



ΠΙΝΑΚΑΣ 12
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 16 έως 20 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	16 ΕΤΩΝ	+	+	-	26	18 ΕΤΩΝ	-		
2	16 ΕΤΩΝ	-			27	18 ΕΤΩΝ	-		
3	16 ΕΤΩΝ	-			28	18 ΕΤΩΝ	-		
4	16 ΕΤΩΝ	-			29	19 ΕΤΩΝ	+	-	-
5	16 ΕΤΩΝ	-			30	19 ΕΤΩΝ	-		
6	16 ΕΤΩΝ	+	-	-	31	19 ΕΤΩΝ	-		
7	16 ΕΤΩΝ	+	-	-	32	19 ΕΤΩΝ	-		
8	16 ΕΤΩΝ	+	+	-	33	19 ΕΤΩΝ	-		
9	16 ΕΤΩΝ	-			34	19 ΕΤΩΝ	-		
10	16 ΕΤΩΝ	+	+	+	35	19 ΕΤΩΝ	-		
11	17 ΕΤΩΝ	-			36	19 ΕΤΩΝ	-		
12	17 ΕΤΩΝ	-			37	19 ΕΤΩΝ	+	+	-
13	17 ΕΤΩΝ	+	-	+	38	19 ΕΤΩΝ	-		
14	17 ΕΤΩΝ	-			39	20 ΕΤΩΝ	-		
15	17 ΕΤΩΝ	-			40	20 ΕΤΩΝ	-		
16	17 ΕΤΩΝ	-			41	20 ΕΤΩΝ	-		
17	17 ΕΤΩΝ	+	-	-	42	20 ΕΤΩΝ	-		
18	17 ΕΤΩΝ	+	-	-	43	20 ΕΤΩΝ	-		
19	17 ΕΤΩΝ	-			44	20 ΕΤΩΝ	-		
20	17 ΕΤΩΝ	-			45	20 ΕΤΩΝ	-		
21	18 ΕΤΩΝ	-			46	20 ΕΤΩΝ	-		
22	18 ΕΤΩΝ	+	+	-	47	20 ΕΤΩΝ	+	+	+
23	18 ΕΤΩΝ	-			48	20 ΕΤΩΝ	-		
24	18 ΕΤΩΝ	-			49	20 ΕΤΩΝ	-		
25	18 ΕΤΩΝ	-			50	20 ΕΤΩΝ	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 13

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 21 έως 25 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	21 ετών	+	-	+	26	23 ετών	-		
2	21 ετών	-			27	23 ετών	+	-	+
3	21 ετών	-			28	23 ετών	+	-	-
4	21 ετών	-			29	23 ετών	-		
5	21 ετών	-			30	23 ετών	-		
6	21 ετών	-			31	24 ετών	-		
7	21 ετών	-			32	24 ετών	-		
8	21 ετών	+	-	-	33	24 ετών	-		
9	21 ετών	-			34	24 ετών	-		
10	21 ετών	-			35	24 ετών	-		
11	22 ετών	-			36	24 ετών	-		
12	22 ετών	-			37	24 ετών	-		
13	22 ετών	-			38	24 ετών	-		
14	22 ετών	+	-	-	39	24 ετών	-		
15	22 ετών	-			40	24 ετών	-		
16	22 ετών	-			41	25 ετών	-		
17	22 ετών	-			42	25 ετών	-		
18	22 ετών	-			43	25 ετών	-		
19	22 ετών	-			44	25 ετών	-		
20	22 ετών	-			45	25 ετών	-		
21	23 ετών	-			46	25 ετών	-		
22	23 ετών	-			47	25 ετών	-		
23	23 ετών	-			48	25 ετών	-		
24	23 ετών	-			49	25 ετών	-		
25	23 ετών	-			50	25 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 14
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 21 έως 25 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	21 ετών	-			26	23 ετών	-		
2	21 ετών	-			27	23 ετών	-		
3	21 ετών	-			28	23 ετών	-		
4	21 ετών	-			29	23 ετών	-		
6	21 ετών	-			31	23 ετών	-		
7	21 ετών	-			32	23 ετών	-		
8	21 ετών	+	-	-	33	24 ετών	-		
9	21 ετών	-			34	24 ετών	-		
10	21 ετών	-			35	24 ετών	+	-	-
11	22 ετών	-			36	24 ετών	+	+	-
12	22 ετών	-			37	24 ετών	-		
13	22 ετών	-			38	24 ετών	-		
14	22 ετών	-			39	24 ετών	-		
15	22 ετών	+	-	+	40	24 ετών	-		
16	22 ετών	-			41	25 ετών	-		
17	22 ετών	-			42	25 ετών	+	+	-
18	22 ετών	-			43	25 ετών	-		
19	22 ετών	-			44	25 ετών	-		
20	22 ετών	+	+	-	45	25 ετών	-		
21	23 ετών	-			46	25 ετών	-		
22	23 ετών	-			47	25 ετών	-		
23	23 ετών	+	-	-	48	25 ετών	-		
24	23 ετών	-			49	25 ετών	-		
25	23 ετών	-			50	25 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 15

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 26 έως 30 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	26 ετών	+	-	+	26	28 ετών	-		
2	26 ετών	+	+	-	27	28 ετών	-		
3	26 ετών	-			28	28 ετών	-		
4	26 ετών	-			29	28 ετών	-		
5	26 ετών	-			30	28 ετών	-		
6	26 ετών	-			31	29 ετών	-		
7	26 ετών	-			32	29 ετών	-		
8	26 ετών	+	-	+	33	29 ετών	-		
9	26 ετών	-			34	29 ετών	-		
10	26 ετών	+	-	-	35	29 ετών	+	+	+
11	27 ετών	+	+	+	36	29 ετών	-		
12	27 ετών	-			37	29 ετών	-		
13	27 ετών	-			38	29 ετών	-		
14	27 ετών	-			39	29 ετών	-		
15	27 ετών	-			40	29 ετών	-		
16	27 ετών	-			41	30 ετών	-		
17	27 ετών	-			42	30 ετών	-		
18	27 ετών	-			43	30 ετών	-		
19	27 ετών	-			44	30 ετών	-		
20	27 ετών	-			45	30 ετών	-		
21	28 ετών	-			46	30 ετών	-		
22	28 ετών	-			47	30 ετών	-		
23	28 ετών	-			48	30 ετών	-		
24	28 ετών	-			49	30 ετών	-		
25	28 ετών	+	+	-	50	30 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 16
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 26 έως 30 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	26 ΕΤΩΝ	-			26	28 ΕΤΩΝ	-		
2	26 ΕΤΩΝ	-			27	28 ΕΤΩΝ	-		
3	26 ΕΤΩΝ	-			28	29 ΕΤΩΝ	+	-	-
4	26 ΕΤΩΝ	-			29	29 ΕΤΩΝ	-		
5	26 ΕΤΩΝ	+	-	+	30	29 ΕΤΩΝ	-		
6	26 ΕΤΩΝ	-			31	29 ΕΤΩΝ	-		
7	26 ΕΤΩΝ	+	+	-	32	29 ΕΤΩΝ	-		
8	26 ΕΤΩΝ	-			33	29 ΕΤΩΝ	-		
9	26 ΕΤΩΝ	-			34	29 ΕΤΩΝ	-		
10	27 ΕΤΩΝ	+	-	-	35	29 ΕΤΩΝ	-		
11	27 ΕΤΩΝ	-			36	29 ΕΤΩΝ	-		
12	27 ΕΤΩΝ	-			37	29 ΕΤΩΝ	-		
13	27 ΕΤΩΝ	-			38	29 ΕΤΩΝ	-		
14	27 ΕΤΩΝ	+	-	-	39	29 ΕΤΩΝ	-		
15	27 ΕΤΩΝ	-			40	30 ΕΤΩΝ	-		
16	27 ΕΤΩΝ	+	-	+	41	30 ΕΤΩΝ	+	+	-
17	27 ΕΤΩΝ	+	-	-	42	30 ΕΤΩΝ	-		
18	28 ΕΤΩΝ	+	-	+	43	30 ΕΤΩΝ	-		
19	28 ΕΤΩΝ	-			44	30 ΕΤΩΝ	+	-	-
20	28 ΕΤΩΝ	-			45	30 ΕΤΩΝ	-		
21	28 ΕΤΩΝ	-			46	30 ΕΤΩΝ	-		
22	28 ΕΤΩΝ	+	-	-	47	30 ΕΤΩΝ	-		
23	28 ΕΤΩΝ	-			48	30 ΕΤΩΝ	-		
24	28 ΕΤΩΝ	+	-	+	49	30 ΕΤΩΝ	-		
25	28 ΕΤΩΝ	-			50	30 ΕΤΩΝ	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 17

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 31 έως 35 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	31 ετών	+	-	+	26	33 ετών	-		
2	31 ετών	-			27	33 ετών	-		
3	31 ετών	-			28	33 ετών	-		
4	31 ετών	-			29	33 ετών	-		
5	31 ετών	-			30	33 ετών	-		
6	31 ετών	-			31	34 ετών	-		
7	31 ετών	-			32	34 ετών	-		
8	31 ετών	-			33	34 ετών	-		
9	31 ετών	+	-	+	34	34 ετών	-		
10	32 ετών	-			35	34 ετών	-		
11	32 ετών	-			36	34 ετών	-		
12	32 ετών	-			37	34 ετών	+	-	+
13	32 ετών	-			38	34 ετών	-		
14	32 ετών	-			39	34 ετών	-		
15	32 ετών	-			40	34 ετών	-		
16	32 ετών	+	+	+	41	35 ετών	-		
17	32 ετών	-			42	35 ετών	+	-	-
18	32 ετών	+	-	+	43	35 ετών	+	-	+
19	32 ετών	-			44	35 ετών	+	-	+
20	32 ετών	-			45	35 ετών	-		
21	33 ετών	-			46	35 ετών	-		
22	33 ετών	-			47	35 ετών	-		
23	33 ετών	-			48	35 ετών	-		
24	33 ετών	-			49	35 ετών	-		
25	33 ετών	-			50	35 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 18
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 31 έως 35 ετών.

a/a	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	a/a	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	31 ΕΤΩΝ	-			26	33 ΕΤΩΝ	-		
2	31 ΕΤΩΝ	+	-	-	27	33 ΕΤΩΝ	-		
3	31 ΕΤΩΝ	+	-	-	28	33 ΕΤΩΝ	-		
4	31 ΕΤΩΝ	-			29	33 ΕΤΩΝ	-		
5	31 ΕΤΩΝ	+	-	+	30	34 ΕΤΩΝ	-		
6	31 ΕΤΩΝ	-			31	34 ΕΤΩΝ	-		
7	31 ΕΤΩΝ	+	-	-	32	34 ΕΤΩΝ	-		
8	31 ΕΤΩΝ	-			33	34 ΕΤΩΝ	+	-	+
9	31 ΕΤΩΝ	+	+	-	34	34 ΕΤΩΝ	-		
10	31 ΕΤΩΝ	-			35	34 ΕΤΩΝ	-		
11	31 ΕΤΩΝ	-			36	34 ΕΤΩΝ	-		
12	31 ΕΤΩΝ	-			37	34 ΕΤΩΝ	+	+	-
13	31 ΕΤΩΝ	-			38	34 ΕΤΩΝ	-		
14	32 ΕΤΩΝ	-			39	34 ΕΤΩΝ	-		
15	32 ΕΤΩΝ	-			40	35 ΕΤΩΝ	-		
16	32 ΕΤΩΝ	-			41	35 ΕΤΩΝ	-		
17	32 ΕΤΩΝ	-			42	35 ΕΤΩΝ	+	+	+
18	32 ΕΤΩΝ	-			43	35 ΕΤΩΝ	-		
19	32 ΕΤΩΝ	+	+	+	44	35 ΕΤΩΝ	+	+	-
20	32 ΕΤΩΝ	-			45	35 ΕΤΩΝ	-		
21	32 ΕΤΩΝ	-			46	35 ΕΤΩΝ	-		
22	32 ΕΤΩΝ	+	-	-	47	35 ΕΤΩΝ	-		
23	33 ΕΤΩΝ	-			48	35 ΕΤΩΝ	-		
24	33 ΕΤΩΝ	-			49	35 ΕΤΩΝ	-		
25	33 ΕΤΩΝ	-			50	35 ΕΤΩΝ	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 19

**Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 36 έως 40 ετών.**

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	36 ετών	-			26	38 ετών	-		
2	36 ετών	-			27	38 ετών	-		
3	36 ετών	-			28	38 ετών	-		
4	36 ετών	-			29	38 ετών	-		
5	36 ετών	+	-	+	30	38 ετών	-		
6	36 ετών	-			31	39 ετών	-		
7	36 ετών	-			32	39 ετών	-		
8	36 ετών	-			33	39 ετών	+	-	-
9	36 ετών	-			34	39 ετών	-		
10	36 ετών	-			35	39 ετών	-		
11	37 ετών	+	-	-	36	39 ετών	-		
12	37 ετών	-			37	39 ετών	-		
13	37 ετών	-			38	39 ετών	-		
14	37 ετών	-			39	39 ετών	+	-	+
15	37 ετών	-			40	39 ετών	-		
16	37 ετών	-			41	40 ετών	+	-	-
17	37 ετών	-			42	40 ετών	-		
18	37 ετών	-			43	40 ετών	-		
19	37 ετών	-			44	40 ετών	-		
20	37 ετών	-			45	40 ετών	-		
21	38 ετών	-			46	40 ετών	+	-	+
22	38 ετών	-			47	40 ετών	-		
23	38 ετών	-			48	40 ετών	-		
24	38 ετών	-			49	40 ετών	-		
25	38 ετών	-			50	40 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 20
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 36 έως 40 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	36 ΕΤΩΝ	+	+	+	26	38 ΕΤΩΝ	-		
2	36 ΕΤΩΝ	-			27	38 ΕΤΩΝ	-		
3	36 ΕΤΩΝ	+	+	+	28	39 ΕΤΩΝ	+	-	+
4	36 ΕΤΩΝ	-			29	39 ΕΤΩΝ	-		
5	36 ΕΤΩΝ	+	+	-	30	39 ΕΤΩΝ	+	-	-
6	36 ΕΤΩΝ	-			31	39 ΕΤΩΝ	-		
7	36 ΕΤΩΝ	+	+	+	32	39 ΕΤΩΝ	-		
8	36 ΕΤΩΝ	+	+	-	33	39 ΕΤΩΝ	-		
9	36 ΕΤΩΝ	-			34	39 ΕΤΩΝ	-		
10	37 ΕΤΩΝ	+	-	+	35	39 ΕΤΩΝ	-		
11	37 ΕΤΩΝ	-			36	39 ΕΤΩΝ	+	-	+
12	37 ΕΤΩΝ	+	-	+	37	39 ΕΤΩΝ	-		
13	37 ΕΤΩΝ	+	-	+	38	40 ΕΤΩΝ	-		
14	37 ΕΤΩΝ	-			39	40 ΕΤΩΝ	-		
15	37 ΕΤΩΝ	-			40	40 ΕΤΩΝ	+	-	-
16	38 ΕΤΩΝ	+	-	+	41	40 ΕΤΩΝ	-		
17	38 ΕΤΩΝ	-			42	40 ΕΤΩΝ	-		
18	38 ΕΤΩΝ	-			43	40 ΕΤΩΝ	-		
19	38 ΕΤΩΝ	-			44	40 ΕΤΩΝ	-		
20	38 ΕΤΩΝ	-			45	40 ΕΤΩΝ	-		
21	38 ΕΤΩΝ	+	-	-	46	40 ΕΤΩΝ	-		
22	38 ΕΤΩΝ	+	-	+	47	40 ΕΤΩΝ	-		
23	38 ΕΤΩΝ	-			48	40 ΕΤΩΝ	-		
24	38 ΕΤΩΝ	-			49	40 ΕΤΩΝ	-		
25	38 ΕΤΩΝ	-			50	40 ΕΤΩΝ	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 21

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 41 έως 45 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	41 ΕΤΩΝ	-			26	43 ΕΤΩΝ	-		
2	41 ΕΤΩΝ	-			27	43 ΕΤΩΝ	-		
3	41 ΕΤΩΝ	-			28	43 ΕΤΩΝ	-		
4	41 ΕΤΩΝ	-			29	43 ΕΤΩΝ	-		
5	41 ΕΤΩΝ	-			30	43 ΕΤΩΝ	+	-	+
6	41 ΕΤΩΝ	-			31	44 ΕΤΩΝ	-		
7	41 ΕΤΩΝ	-			32	44 ΕΤΩΝ	-		
8	41 ΕΤΩΝ	-			33	44 ΕΤΩΝ	-		
9	41 ΕΤΩΝ	+	-	-	34	44 ΕΤΩΝ	+	-	+
10	41 ΕΤΩΝ	-			35	44 ΕΤΩΝ	+	-	+
11	42 ΕΤΩΝ	-			36	44 ΕΤΩΝ	-		
12	42 ΕΤΩΝ	+	-	+	37	44 ΕΤΩΝ	+	-	+
13	42 ΕΤΩΝ	-			38	44 ΕΤΩΝ	-		
14	42 ΕΤΩΝ	-			39	44 ΕΤΩΝ	-		
15	42 ΕΤΩΝ	-			40	44 ΕΤΩΝ	-		
16	42 ΕΤΩΝ	-			41	45 ΕΤΩΝ	-		
17	42 ΕΤΩΝ	-			42	45 ΕΤΩΝ	-		
18	42 ΕΤΩΝ	-			43	45 ΕΤΩΝ	-		
19	42 ΕΤΩΝ	-			44	45 ΕΤΩΝ	-		
20	42 ΕΤΩΝ	-			45	45 ΕΤΩΝ	-		
21	43 ΕΤΩΝ	-			46	45 ΕΤΩΝ	+	-	-
22	43 ΕΤΩΝ	-			47	45 ΕΤΩΝ	-		
23	43 ΕΤΩΝ	-			48	45 ΕΤΩΝ	-		
24	43 ΕΤΩΝ	-			49	45 ΕΤΩΝ	-		
25	43 ΕΤΩΝ	-			50	45 ΕΤΩΝ	+	-	+



ΠΙΝΑΚΑΣ 22
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 41 έως 45 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	41 ετών	-			26	43 ετών	-		
2	41 ετών	+	+	+	27	43 ετών	-		
3	41 ετών	+	-	+	28	43 ετών	+	-	-
4	41 ετών	-			29	43 ετών	-		
5	41 ετών	+	-	-	30	43 ετών	-		
6	41 ετών	+	+	-	31	43 ετών	-		
7	41 ετών	-			32	43 ετών	-		
8	41 ετών	-			33	44 ετών	-		
9	41 ετών	+	+	+	34	44 ετών	+	-	-
10	41 ετών	-			35	44 ετών	-		
11	42 ετών	+	-	+	36	44 ετών	+	-	+
12	42 ετών	+	+	+	37	44 ετών	-		
13	42 ετών	-			38	44 ετών	-		
14	42 ετών	+	-	-	39	44 ετών	-		
15	42 ετών	-			40	44 ετών	-		
16	42 ετών	-			41	44 ετών	-		
17	42 ετών	-			42	44 ετών	-		
18	42 ετών	-			43	44 ετών	-		
19	42 ετών	-			44	45 ετών	-		
20	42 ετών	-			45	45 ετών	-		
21	43 ετών	-			46	45 ετών	+	-	+
22	43 ετών	-			47	45 ετών	-		
23	43 ετών	-			48	45 ετών	+	+	+
24	43 ετών	-			49	45 ετών	-		
25	43 ετών	+	-	+	50	45 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 23

**Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 46 έως 50 ετών.**

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	46 ετών	-			26	48 ετών	-		
2	46 ετών	-			27	48 ετών	-		
3	46 ετών	-			28	48 ετών	-		
4	46 ετών	-			29	48 ετών	-		
5	46 ετών	-			30	48 ετών	-		
6	46 ετών	+	-	+	31	49 ετών	-		
7	46 ετών	-			32	49 ετών	-		
8	46 ετών	+	-	-	33	49 ετών	-		
9	46 ετών	-			34	49 ετών	-		
10	46 ετών	+	-	-	35	49 ετών	-		
11	47 ετών	-			36	49 ετών	-		
12	47 ετών	-			37	49 ετών	-		
13	47 ετών	-			38	49 ετών	-		
14	47 ετών	-			39	49 ετών	+	-	+
15	47 ετών	-			40	49 ετών	+	-	+
16	47 ετών	-			41	49 ετών	-		
17	47 ετών	+	-	+	42	50 ετών	-		
18	47 ετών	-			43	50 ετών	-		
19	47 ετών	-			44	50 ετών	-		
20	47 ετών	+	-	+	45	50 ετών	-		
21	47 ετών	+	-	+	46	50 ετών	-		
22	48 ετών	-			47	50 ετών	-		
23	48 ετών	-			48	50 ετών	-		
24	48 ετών	-			49	50 ετών	+	-	+
25	48 ετών	-			50	50 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 24
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 46 έως 50 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	46 ΕΤΩΝ	-			26	48 ΕΤΩΝ	+	+	+
2	46 ΕΤΩΝ	-			27	48 ΕΤΩΝ	-		
3	46 ΕΤΩΝ	-			28	48 ΕΤΩΝ	-		
4	46 ΕΤΩΝ	-			29	48 ΕΤΩΝ	-		
5	46 ΕΤΩΝ	-			30	49 ΕΤΩΝ	-		
6	46 ΕΤΩΝ	-			31	49 ΕΤΩΝ	-		
7	46 ΕΤΩΝ	-			32	49 ΕΤΩΝ	-		
8	46 ΕΤΩΝ	+	-	+	33	49 ΕΤΩΝ	+	+	-
9	46 ΕΤΩΝ	-			34	49 ΕΤΩΝ	-		
10	46 ΕΤΩΝ	-			35	49 ΕΤΩΝ	+	+	-
11	46 ΕΤΩΝ	-			36	49 ΕΤΩΝ	-		
12	46 ΕΤΩΝ	-			37	49 ΕΤΩΝ	-		
13	47 ΕΤΩΝ	-			38	49 ΕΤΩΝ	-		
14	47 ΕΤΩΝ	-			39	49 ΕΤΩΝ	-		
15	47 ΕΤΩΝ	-			40	49 ΕΤΩΝ	+	+	+
16	47 ΕΤΩΝ	+	+	+	41	49 ΕΤΩΝ	+	+	-
17	47 ΕΤΩΝ	-			42	50 ΕΤΩΝ	-		
18	47 ΕΤΩΝ	-			43	50 ΕΤΩΝ	+	-	+
19	47 ΕΤΩΝ	+	+	+	44	50 ΕΤΩΝ	-		
20	47 ΕΤΩΝ	-			45	50 ΕΤΩΝ	+	-	+
21	48 ΕΤΩΝ	-			46	50 ΕΤΩΝ	-		
22	48 ΕΤΩΝ	-			47	50 ΕΤΩΝ	+	-	+
23	48 ΕΤΩΝ	-			48	50 ΕΤΩΝ	+	+	-
24	48 ΕΤΩΝ	-			49	50 ΕΤΩΝ	-		
25	48 ΕΤΩΝ	-			50	50 ΕΤΩΝ	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 25

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 51 έως 55 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	51 ετών	-			26	53 ετών	-		
2	51 ετών	+	-	+	27	53 ετών	-		
3	51 ετών	+	-	+	28	53 ετών	-		
4	51 ετών	-			29	53 ετών	-		
5	51 ετών	+	-	-	30	53 ετών	-		
6	51 ετών	-			31	54 ετών	-		
7	51 ετών	+	-	+	32	54 ετών	-		
8	51 ετών	+	-	+	33	54 ετών	-		
9	51 ετών	-			34	54 ετών	-		
10	51 ετών	-			35	54 ετών	-		
11	51 ετών	-			36	54 ετών	-		
12	52 ετών	-			37	54 ετών	-		
13	52 ετών	+	-	-	38	54 ετών	-		
14	52 ετών	-			39	54 ετών	-		
15	52 ετών	-			40	54 ετών	+	-	+
16	52 ετών	+	-	+	41	55 ετών	-		
17	52 ετών	-			42	55 ετών	-		
18	52 ετών	-			43	55 ετών	-		
19	52 ετών	-			44	55 ετών	-		
20	52 ετών	-			45	55 ετών	-		
21	53 ετών	-			46	55 ετών	-		
22	53 ετών	-			47	55 ετών	-		
23	53 ετών	-			48	55 ετών	+	-	+
24	53 ετών	-			49	55 ετών	-		
25	53 ετών	+	-	+	50	55 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 26
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 51 έως 55 ετών.

a/a	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	a/a	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	51 ετών	-			26	53 ετών	+	-	+
2	51 ετών	-			27	53 ετών	-		
3	51 ετών	+	-	-	28	53 ετών	-		
4	51 ετών	-			29	53 ετών	-		
5	51 ετών	-			30	53 ετών	-		
6	51 ετών	-			31	53 ετών	-		
7	51 ετών	-			32	53 ετών	-		
8	51 ετών	-			33	54 ετών	-		
9	51 ετών	+	-	+	34	54 ετών	-		
10	51 ετών	-			35	54 ετών	-		
11	52 ετών	-			36	54 ετών	+	+	-
12	52 ετών	-			37	54 ετών	-		
13	52 ετών	-			38	54 ετών	-		
14	52 ετών	-			39	54 ετών	-		
15	52 ετών	-			40	54 ετών	-		
16	52 ετών	-			41	55 ετών	+	-	+
17	52 ετών	-			42	55 ετών	-		
18	52 ετών	+	-	+	43	55 ετών	-		
19	52 ετών	-			44	55 ετών	+	+	-
20	52 ετών	+	+	+	45	55 ετών	-		
21	52 ετών	-			46	55 ετών	-		
22	52 ετών	+	-	-	47	55 ετών	-		
23	52 ετών	-			48	55 ετών	+	-	-
24	52 ετών	-			49	55 ετών	-		
25	52 ετών	-			50	55 ετών	-		



ΠΙΝΑΚΑΣ 27

Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε άρρενα άτομα ηλικίας 56 έως 60 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	56 ετών	-			26	58 ετών	+	-	-
2	56 ετών	-			27	58 ετών	-		
3	56 ετών	-			28	58 ετών	-		
4	56 ετών	-			29	58 ετών	-		
5	56 ετών	-			30	58 ετών	-		
6	56 ετών	-			31	58 ετών	-		
7	56 ετών	-			32	58 ετών	-		
8	56 ετών	-			33	59 ετών	-		
9	56 ετών	-			34	59 ετών	+	-	+
10	56 ετών	-			35	59 ετών	-		
11	56 ετών	-			36	59 ετών	-		
12	56 ετών	+	-	-	37	59 ετών	-		
13	56 ετών	+	-	+	38	59 ετών	+	-	+
14	57 ετών	-			39	59 ετών	-		
15	57 ετών	-			40	59 ετών	-		
16	57 ετών	-			41	59 ετών	+	-	+
17	57 ετών	-			42	60 ετών	-		
18	57 ετών	-			43	60 ετών	+	-	+
19	57 ετών	-			44	60 ετών	-		
20	57 ετών	-			45	60 ετών	-		
21	57 ετών	+	-	-	46	60 ετών	-		
22	57 ετών	-			47	60 ετών	+	-	+
23	57 ετών	-			48	60 ετών	-		
24	57 ετών	+	-	-	49	60 ετών	-		
25	57 ετών	-			50	60 ετών	+	-	-



ΠΙΝΑΚΑΣ 28
Αποτελέσματα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι
C. trachomatis σε Θήλεα άτομα ηλικίας 56 έως 60 ετών.

α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA	α/α	Ηλικία	IgG	IgM	IgA
1	56 ετών	+	-	-	26	58 ετών	+	-	+
2	56 ετών	-			27	58 ετών	-		
3	56 ετών	-			28	58 ετών	-		
4	56 ετών	-			29	58 ετών	-		
5	56 ετών	-			30	58 ετών	+	-	-
6	56 ετών	+	+	+	31	58 ετών	+	-	-
7	56 ετών	-			32	58 ετών	-		
8	56 ετών	-			33	58 ετών	-		
9	56 ετών	-			34	59 ετών	-		
10	56 ετών	-			35	59 ετών	+	-	-
11	56 ετών	+	-	-	36	59 ετών	-		
12	56 ετών	-			37	59 ετών	+	-	-
13	56 ετών	-			38	59 ετών	-		
14	56 ετών	+	-	+	39	59 ετών	-		
15	56 ετών	+	+	-	40	59 ετών	-		
16	57 ετών	+	+	+	41	60 ετών	-		
17	57 ετών	+	-	+	42	60 ετών	-		
18	57 ετών	-			43	60 ετών	-		
19	57 ετών	-			44	60 ετών	-		
20	57 ετών	-			45	60 ετών	-		
21	57 ετών	+	-	-	46	60 ετών	-		
22	57 ετών	-			47	60 ετών	-		
23	57 ετών	-			48	60 ετών	-		
24	57 ετών	-			49	60 ετών	-		
25	58 ετών	-			50	60 ετών	-		



Πίνακας 31

Συχνότητα IgG-, IgM-και IgA-αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* σε άρρενα και θήλεα άτομα.

Φύλο	IgG (+) %	IgM (+) %	IgA (+) %
Άρρενα	13,53	2,3	7
Θήλεα	19,14	7	7,57
Σύνολο	16,34	4,7	7,29

Πίνακας 32

Συχνότητα IgG-, IgM-και IgA-αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* σε άρρενα άτομα κατά ομάδες ηλικιών.

Ηλικία	IgG (+) %	IgM (+) %	IgA (+) %
0-5 μην.	14	0	0
6-12 μην.	10	6	2
1-15 ετών	6	4,7	1,3
16-40 ετών	13,2	3,6	7,6
41-50 ετών	17	0	13
51-60 ετών	21	0	14

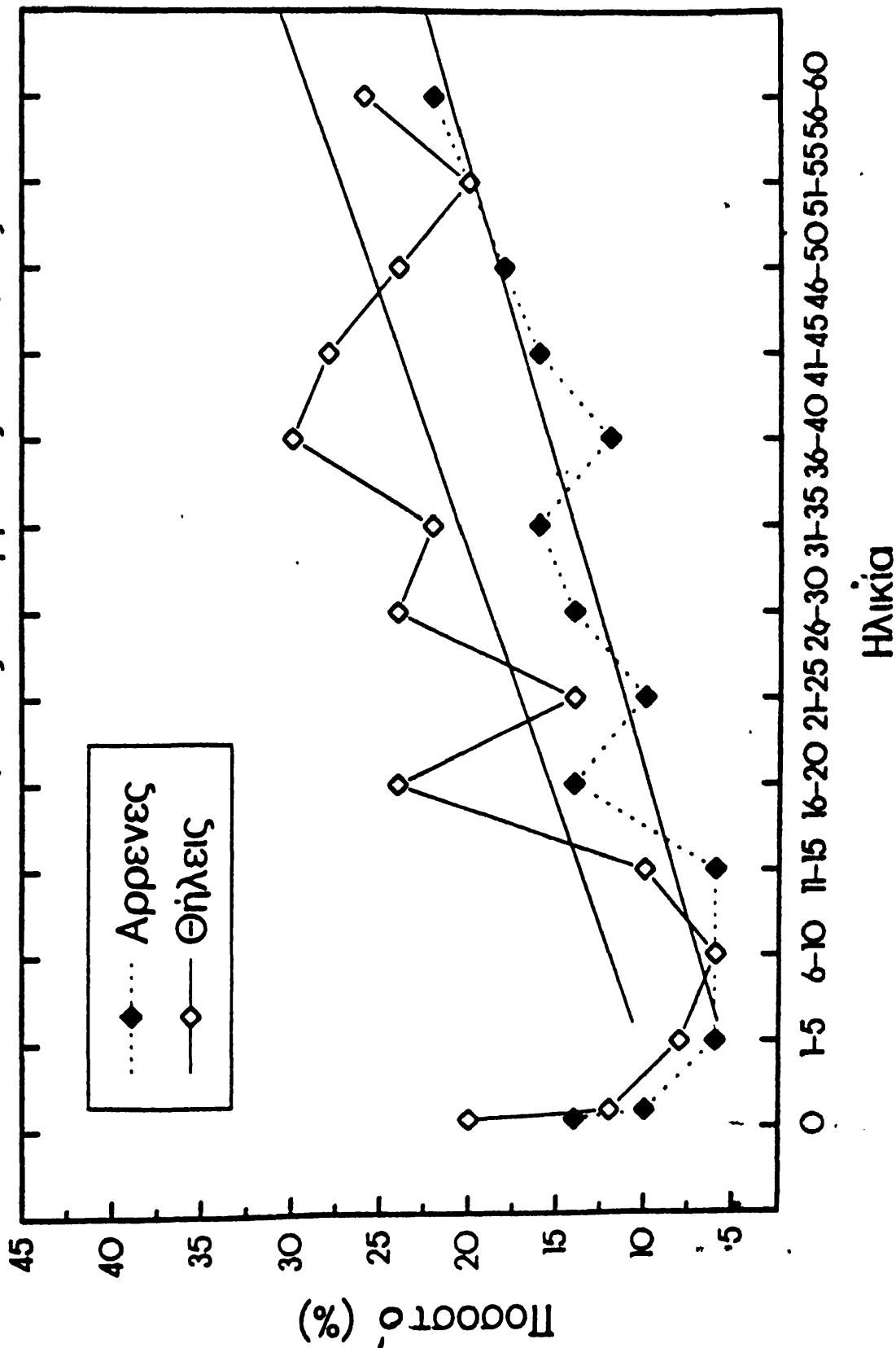
Πίνακας 33

Συχνότητα IgG-, IgM-και IgA-αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* σε θήλεα άτομα κατά ομάδες ηλικιών.

Ηλικία	IgG (+) %	IgM (+) %	IgA (+) %
0-5 μην.	20	0	0
6-12 μην.	12	6	2
1-15 ετών	8	4,7	1,3
16-40 ετών	22,8	8,4	8,8
41-50 ετών	26	13	17
51-60 ετών	23	6	11



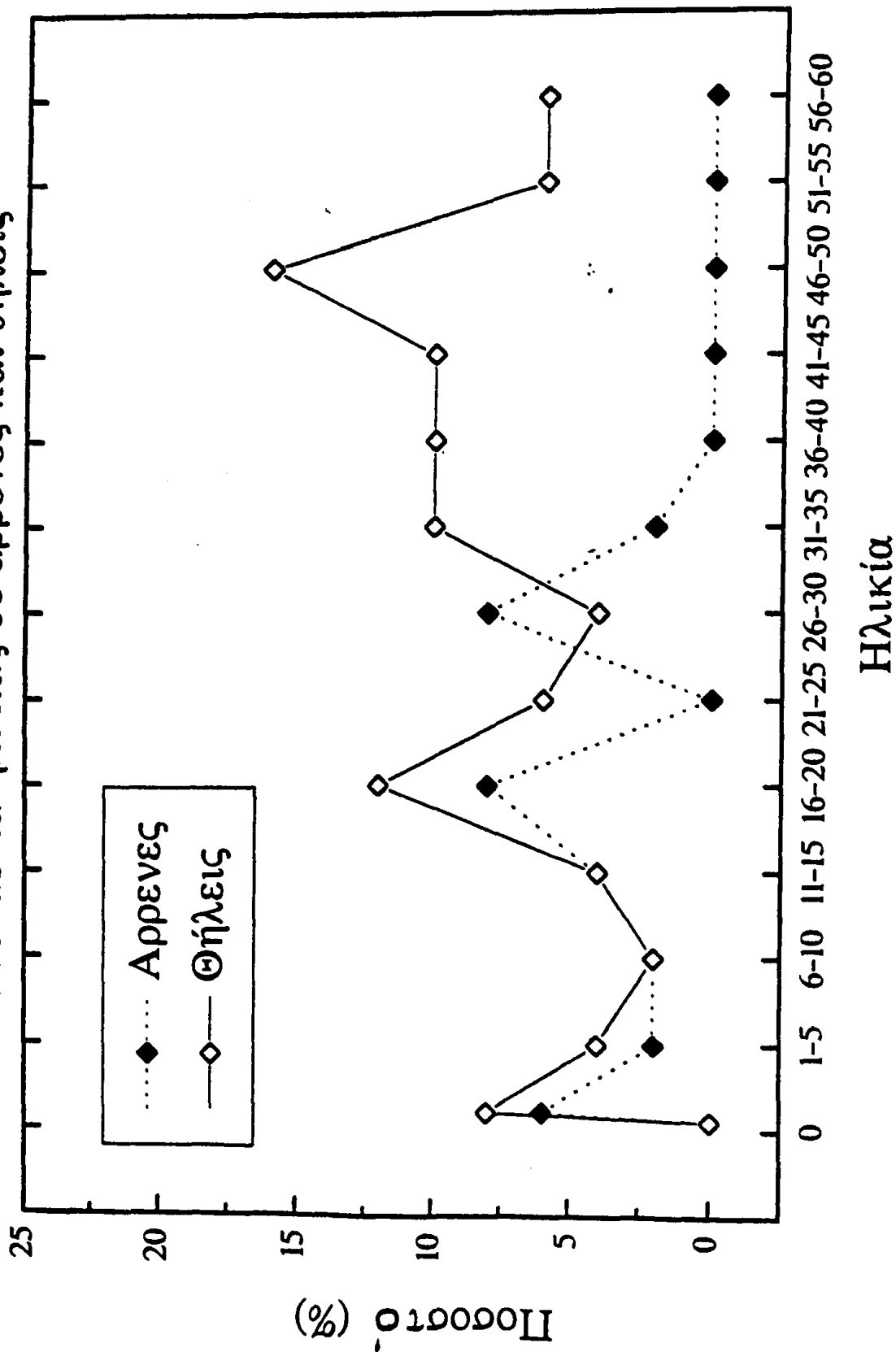
Συχνότητα αντισωμάτων IgG έναντι της *C. Trachomatis*
κατά δεκαετία ηλικίας σε άρρενες και θήλειες



Σχήμα: 1.

Συχνότητα αντισωμάτων IgM έναντι της *C. Trachomatis*

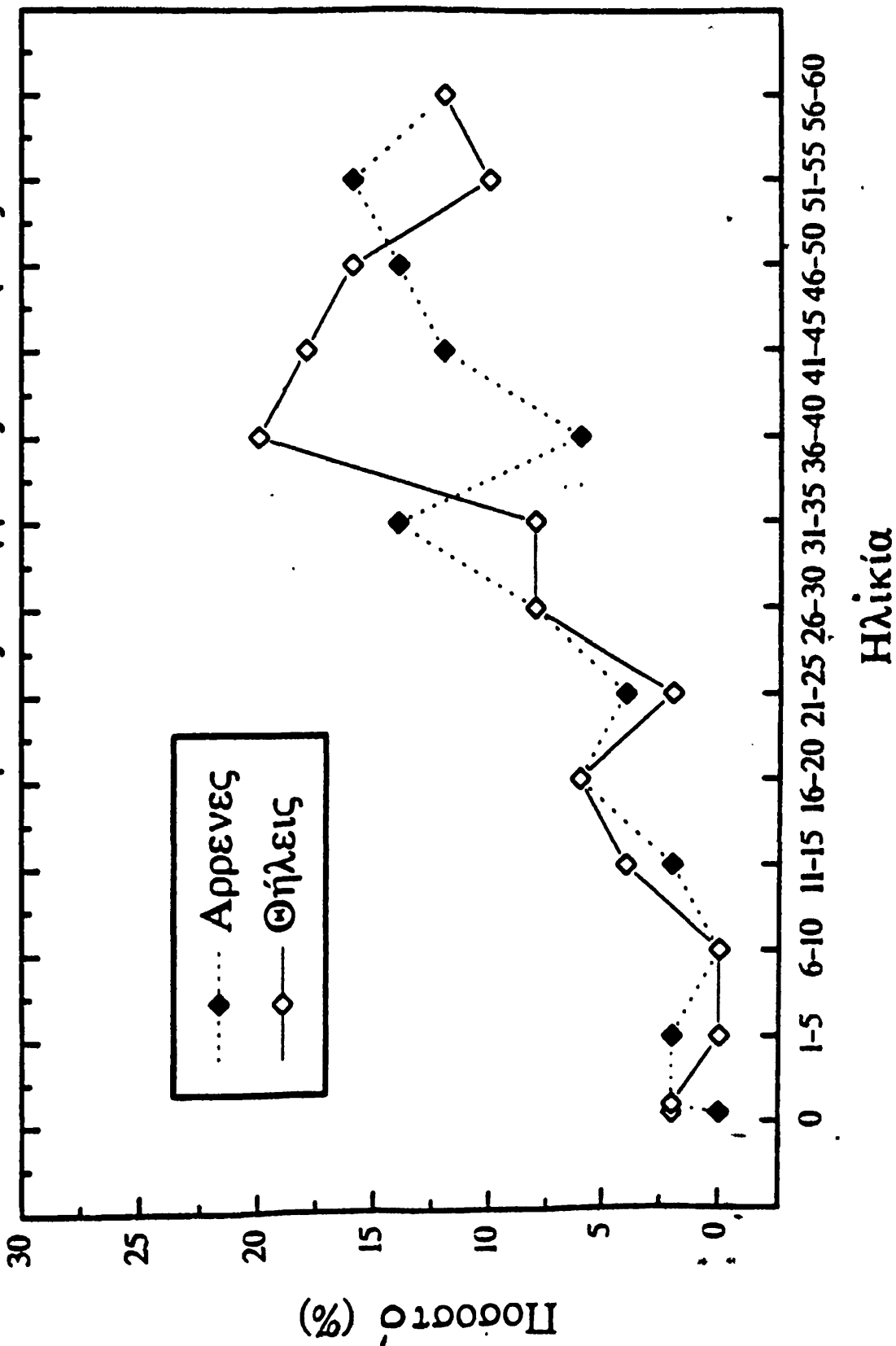
κατά δεκαετία ηλικίας σε άρρενες και θήλεις



Σχήμα: 2

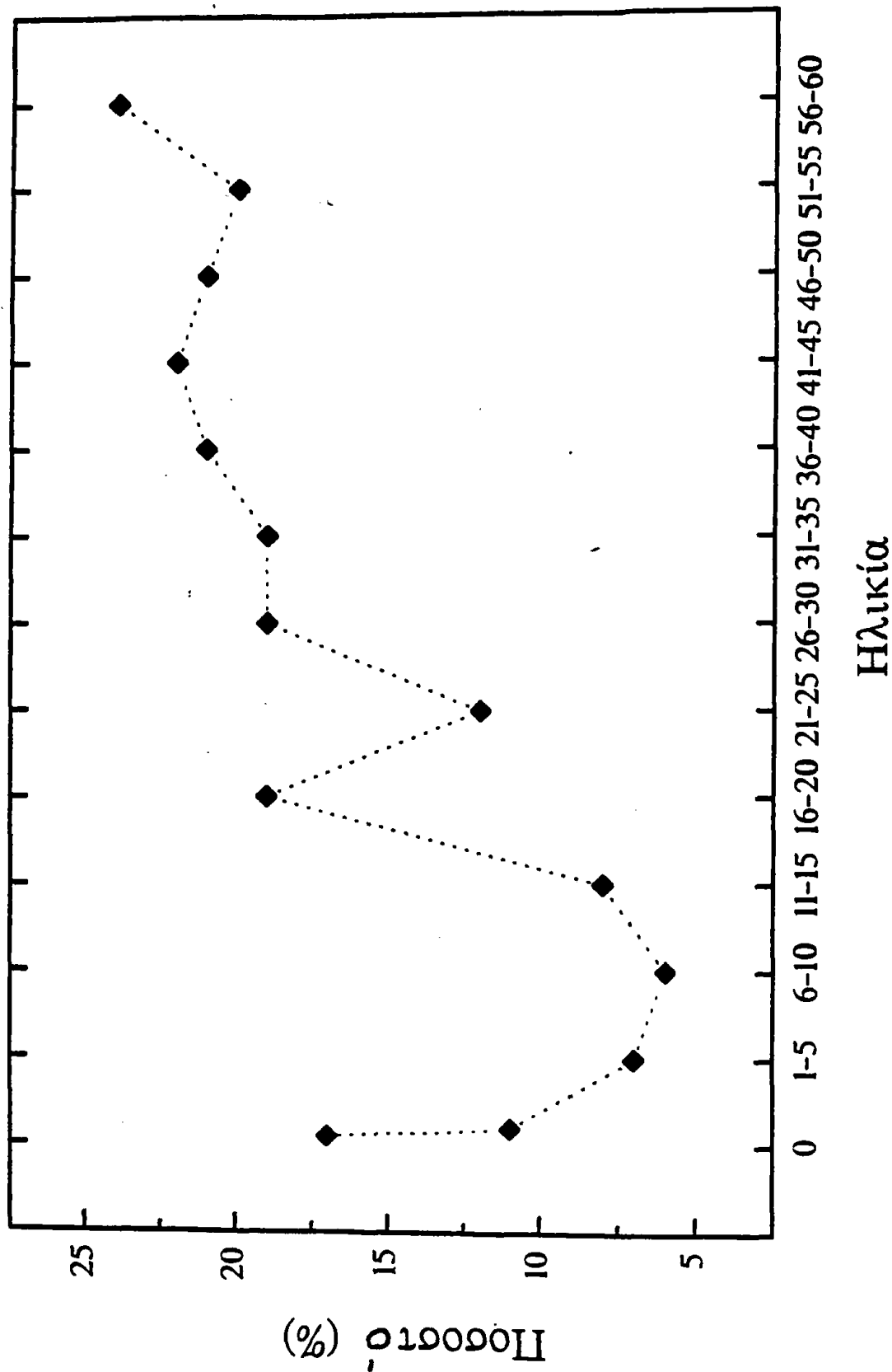
Συχνότητα αντισωμάτων IgA έναντι της *C. Trachomatis*

κατά δεκαετία ηλικίας σε αρρένες και θήλεις



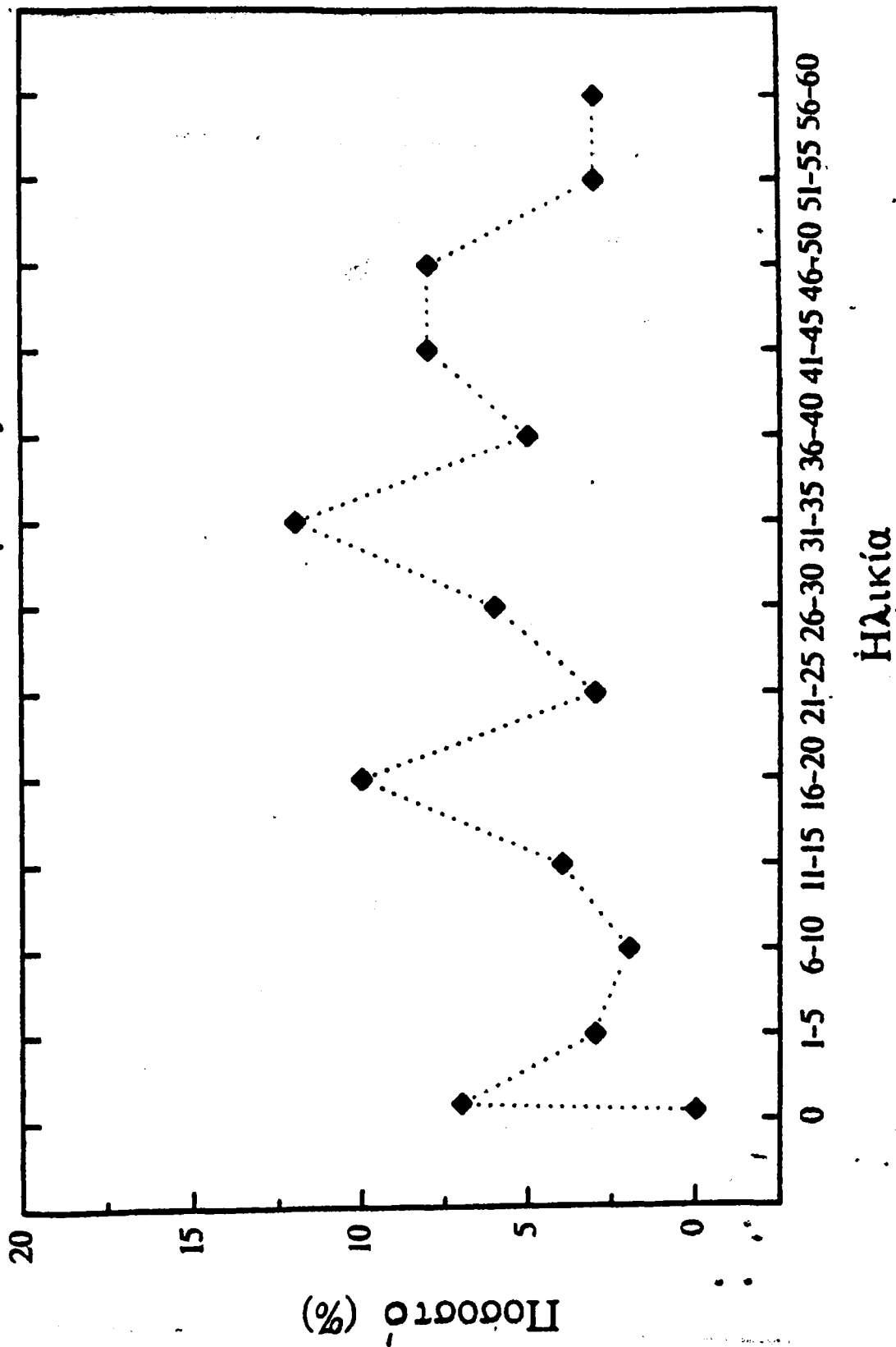
Συχνότητα αντισωμάτων IgG έναντι της *C. Trachomatis*

κατά πενταετία ηλικίας

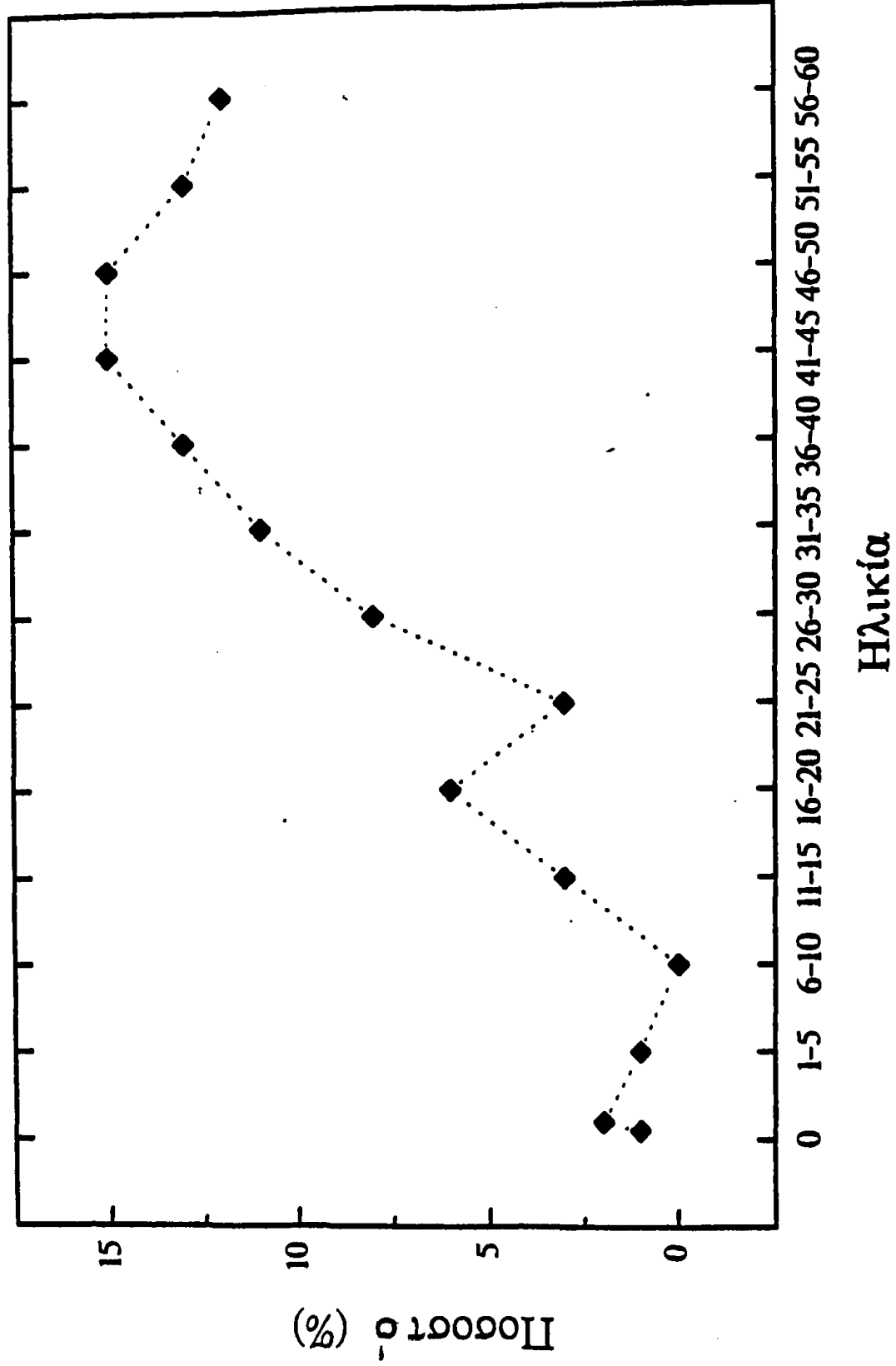


Σχήμα: 4

Συχνότητα αντισωμάτων IgM έναντι της *C. Trachomatis*
κατά πενταετία ηλικίας

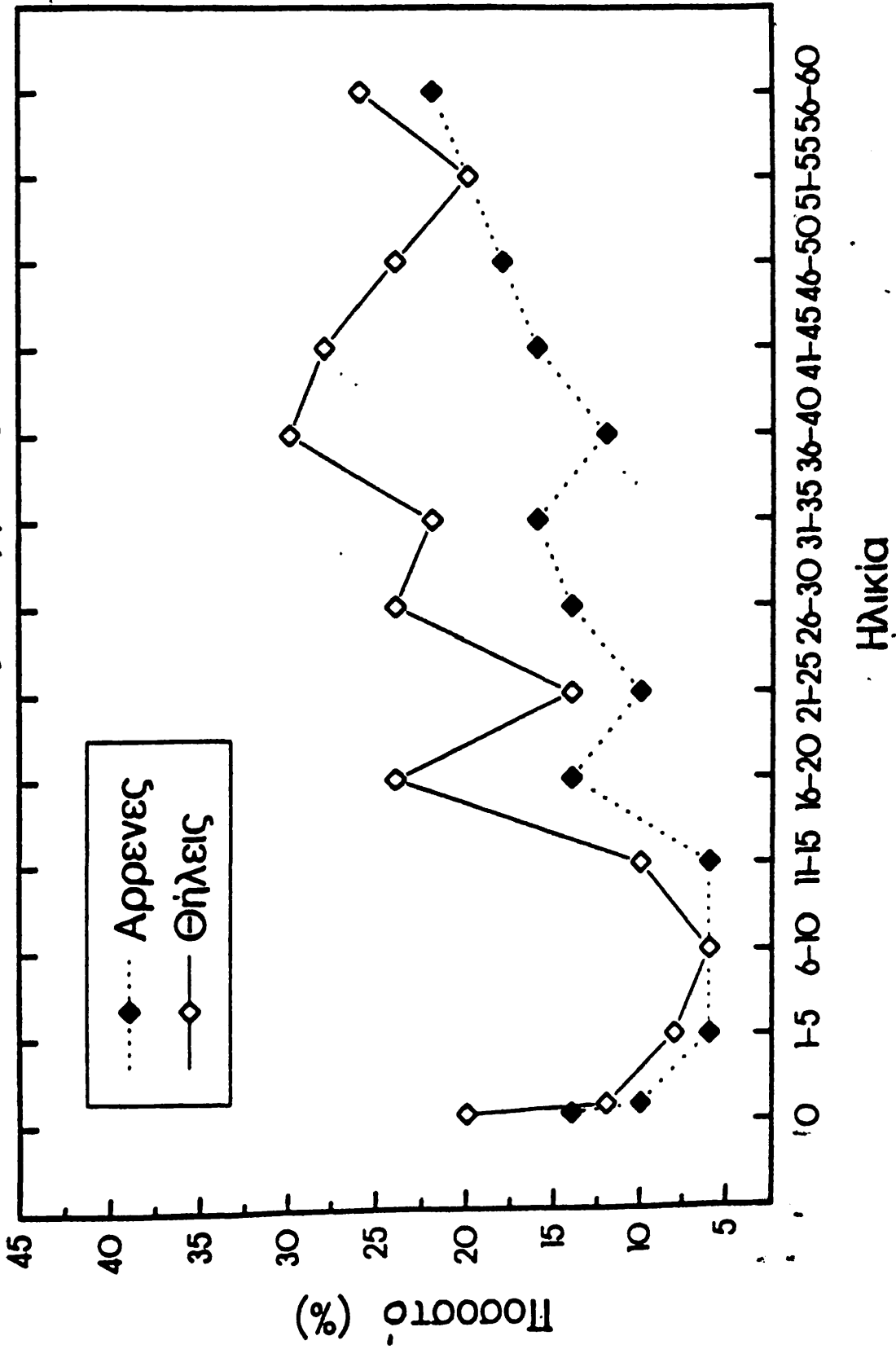


Συχνότητα αντισωμάτων IgA έναντι της *C. Trachomatis*
κατά πενταετία ηλικίας

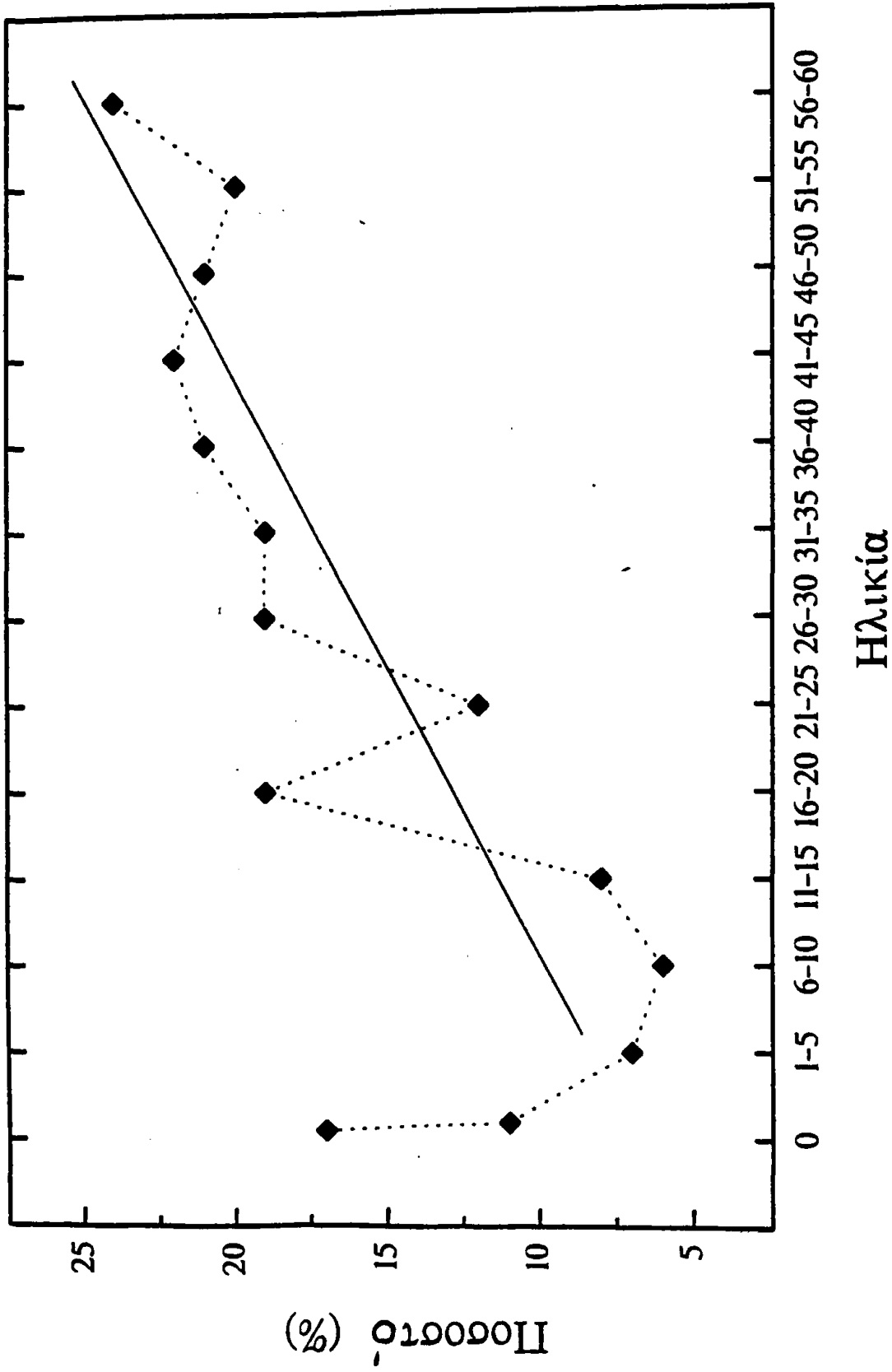


Σχήμα: 6

Συχνότητα αντισωμάτων IgG έναντι της *C. Trachomatis*
κατά δεκαετία ηλικίας σε άρρενες και θήλεις

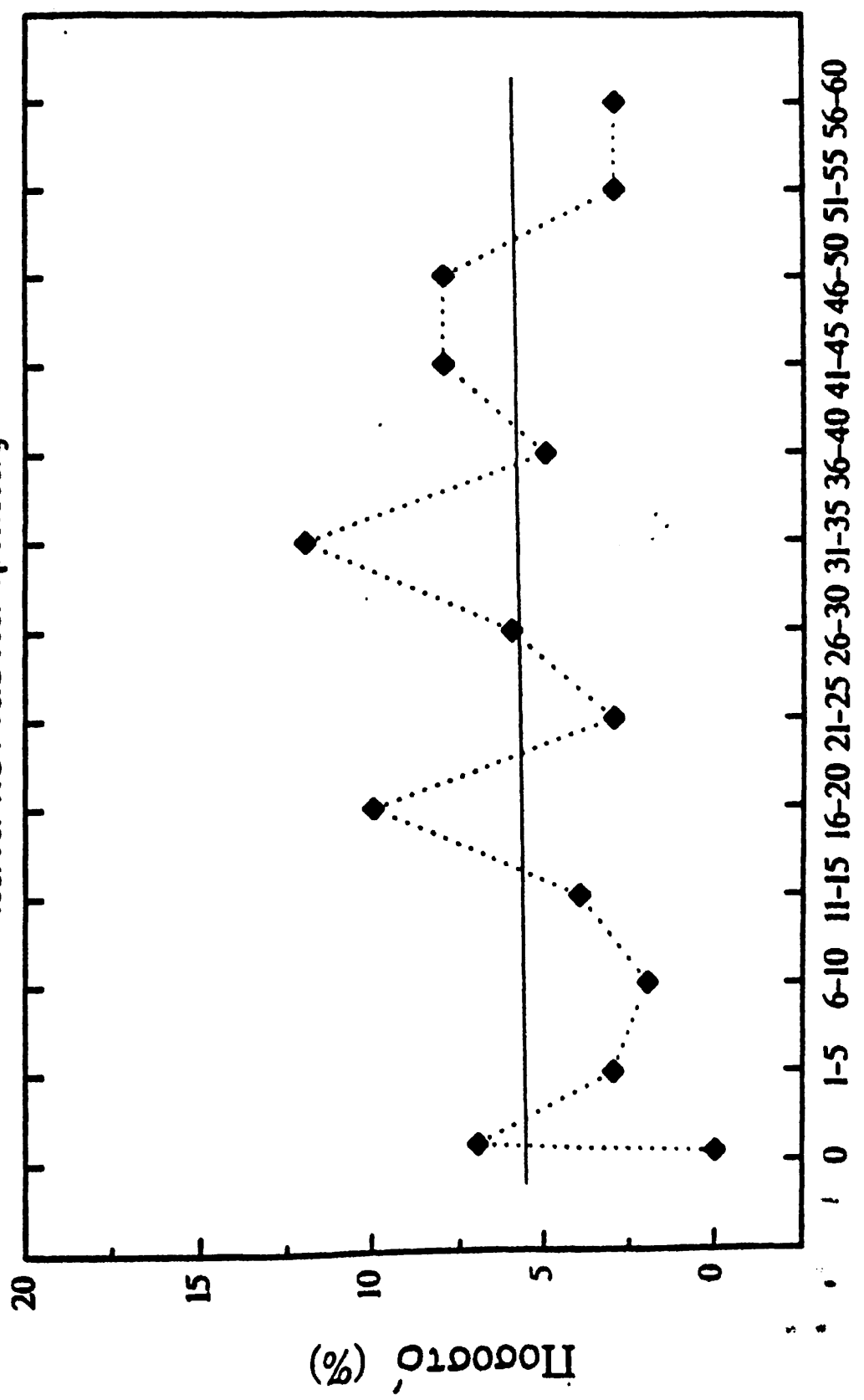


Συχνότητα αντισωμάτων IgG έναντι της *C. Trachomatis*
κατά πενταετία ηλικίας



Σχήμα: 8

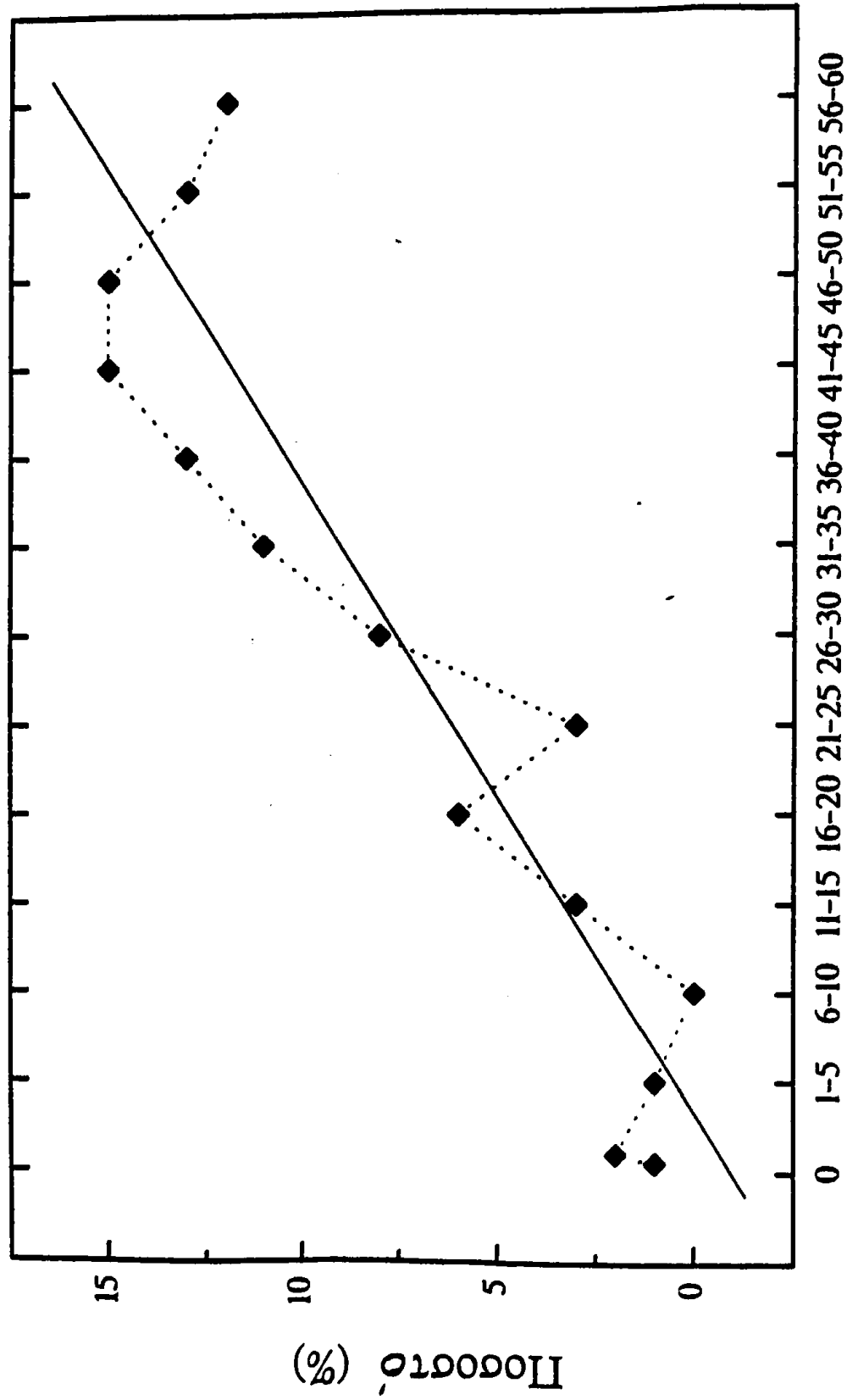
Συχνότητα αντισωμάτων IgM έναντι της *C. Trachomatis*
κατά πενταετία ηλικίας



Ηλικία

Σχήμα: 9

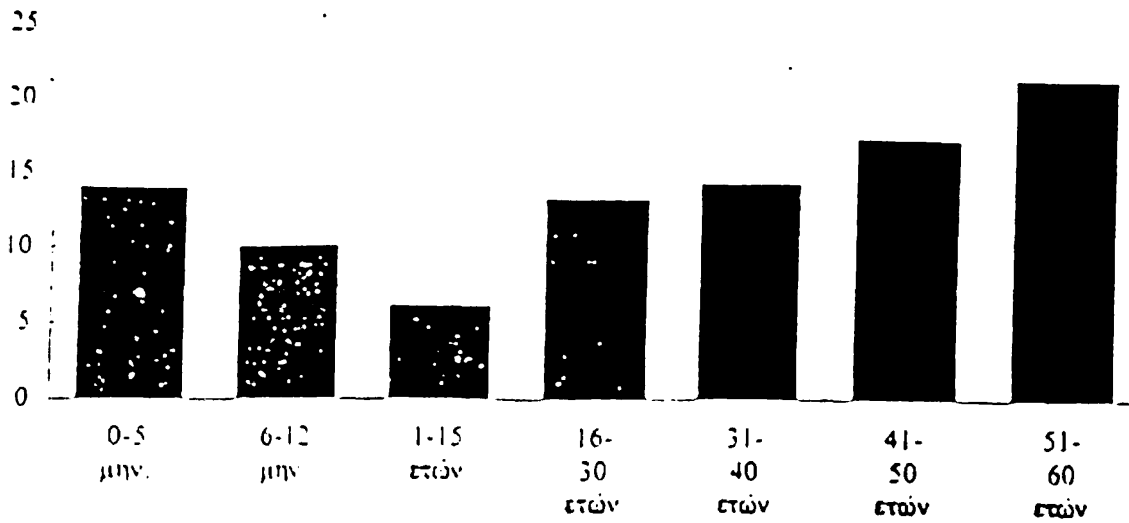
Συχνότητα αντισωμάτων IgA έναντι της *C. Trachomatis*
κατά πενταετία ηλικίας



Ηλικία

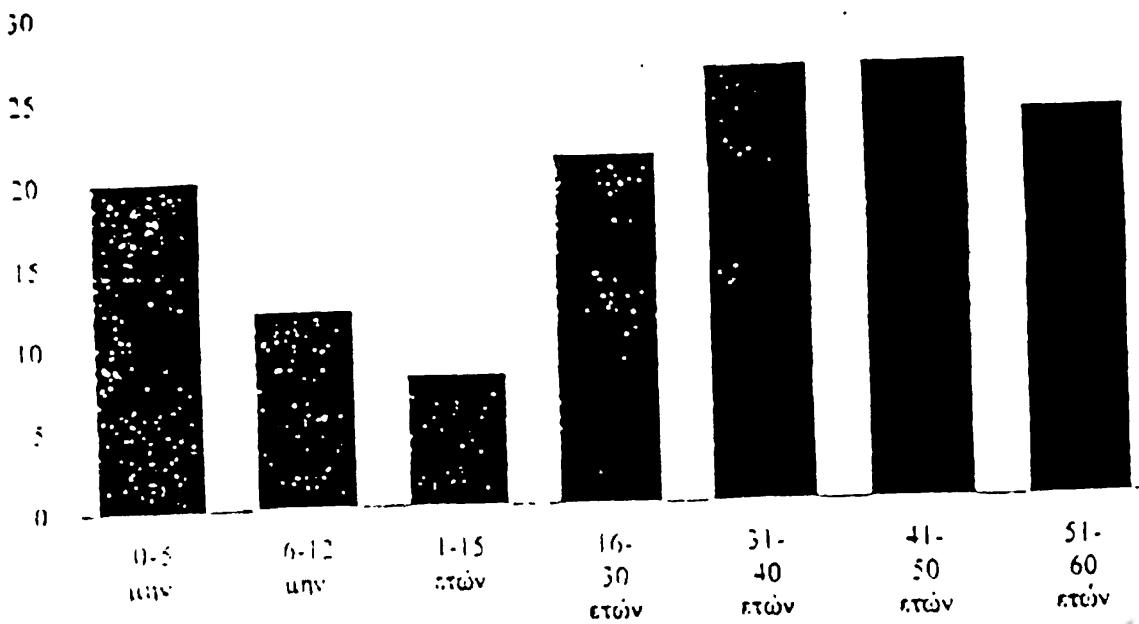
Σχήμα: 10

% συχνот. IgG σε άρρενα άτομα



Σχήμα: 11

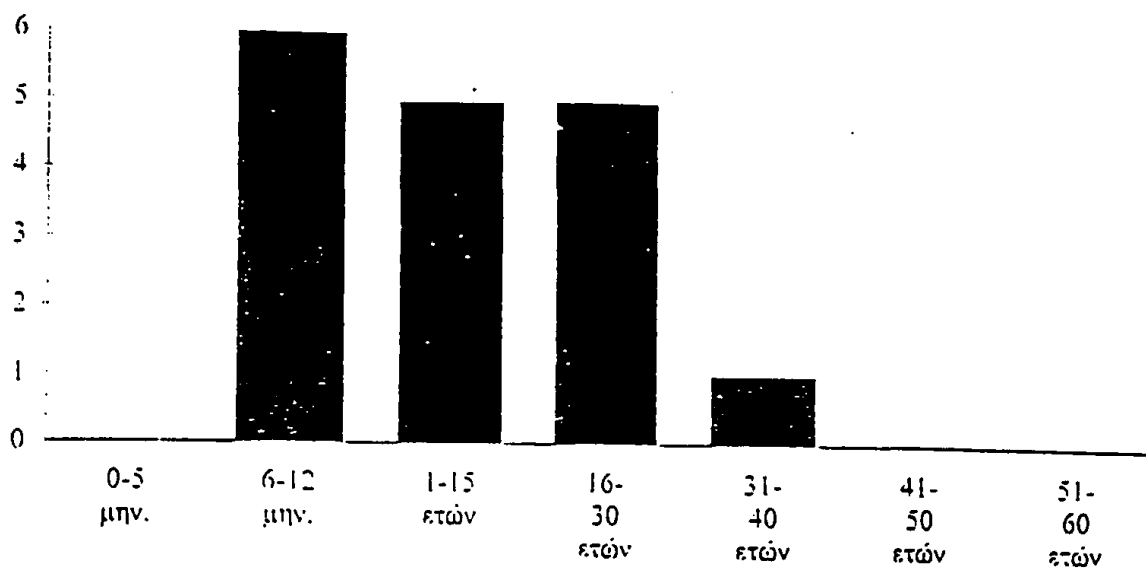
% συχνот. IgG σε θήλυα άτομα



Σχήμα: 12

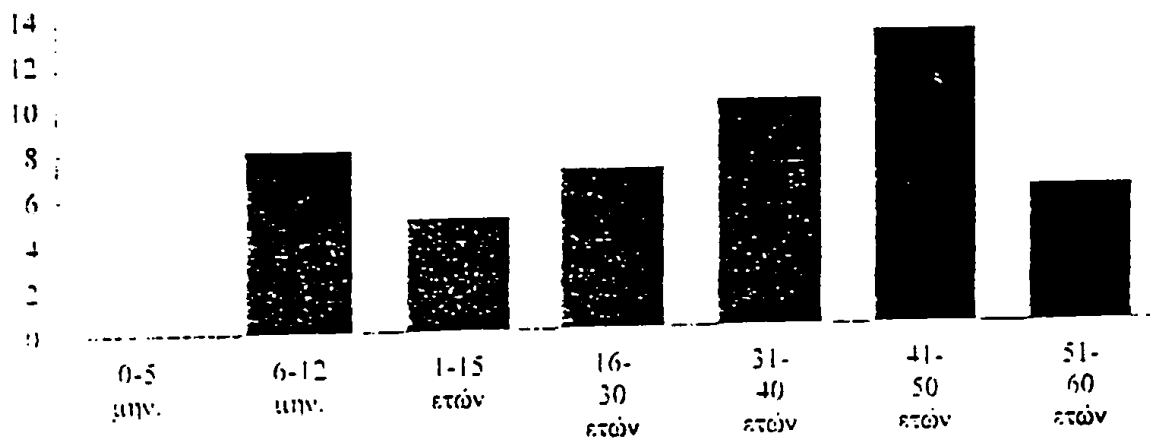


% συχνот. IgM σε άρρενα άτομα



Σχήμα: 13

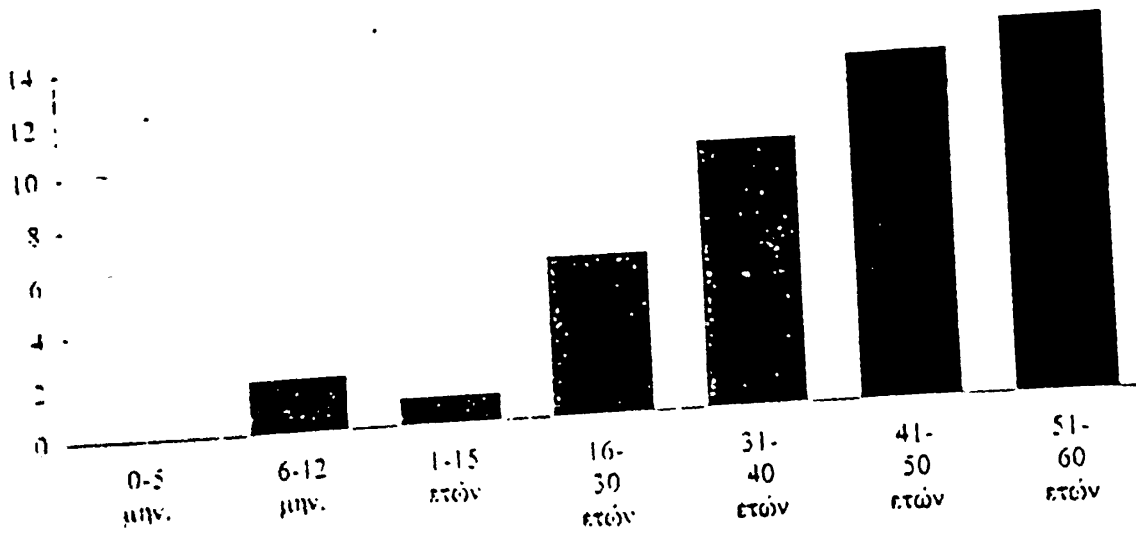
% συχνот. IgM σε θήλεα άτομα



Σχήμα: 14

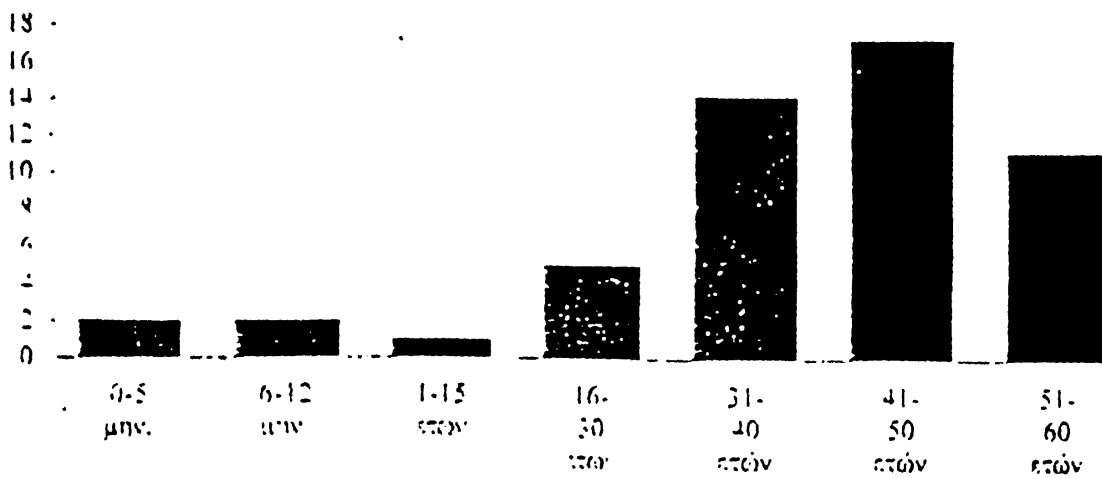


% συχνот. IgA σε άρρενα άτομα



Σχήμα: 15

% συχνот. IgA σε θήλεα άτομα



Σχήμα: 16.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αναλυτικά αποτελέσματα της εξέτασης 1.400 δειγμάτων ορών για την διαπίστωση αντισωμάτων έναντι του *C. trachomatis* αναφέρονται στους πίνακες 1-28.

Στους πίνακες 29 και 30 αναγράφονται τα συνοπτικά αποτελέσματα προσδιορισμού IgG-, IgM- και IgA-αντισωμάτων έναντι του *C. trachomatis* σε άρρενα και θήλεα άτομα αντίστοιχα. Οι αυξομειώσεις που παρατηρούνται μεταξύ των επιμέρους ομάδων ηλικιών και παρεμβάλλονται μεταξύ μιας γενικώτερης πρακτικά ανοδικής ή καθοδικής τάσης ή ακόμη και παραμονής της συχνότητας σε σταθερά επίπεδα μεταξύ ορισμένων ομάδων ηλικιών, δικαιολογούνται από το γεγονός ότι η σύνθεση του αντιπροσωπευτικού για κάθε ομάδα ηλικιών δείγματος δεν περιλαμβάνει τα ίδια άτομα ηλικίας από 0-60 ετών, αλλά αποτελείται από διαφορετικά άτομα. Επιπλέον, οι αυξομειώσεις αυτές αποδίδονται στον σχετικά μικρό αριθμό των κατά φύλο και ομάδα ηλικιών εξετασθέντων δειγμάτων (50 άτομα). Ασφαλώς εάν ο αριθμός αυτών των δειγμάτων ήταν κατά πολύ μεγαλύτερος πράγμα το οποίο θα υπερέβαινε τις δυνατότητες αυτής της εργασίας κατά την οποία εξετάσθηκαν 1400 συνολικά δείγματα ορών οι αυξομειώσεις αυτές δεν θα παρατηρούντο. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τους συνοπτικούς πίνακες 32 και 33 στους οποίους περισσότερες ομάδες ηλικιών συνενόθησαν σε κατηγορίες αποτελούμενες από μεγαλύτερο αριθμό ατόμων.

Στον πίνακα 31 αναγράφεται η συχνότητα IgG- , IgM- και IgA- αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* σε άρρενα και θήλεα άτομα.

Στους πίνακες 32 και 33 αναλύεται η συχνότητα IgG-, IgM- και IgA- αντισωμάτων σε άρρενα και θήλεα άτομα αντίστοιχα μετά από ομαδοποίηση σε επιλεγμένες κατηγορίες ηλικιών. Η επιλογή αυτή έγινε με ανοσοεπιδημιολογικά κριτήρια ώστε να προκύπτει ο χρόνος παραμονής των μητρικών IgG- αντισωμάτων και η παραγωγή IgM - και IgA- αντισωμάτων κατά το πρώτο και δεύτερο εξάμηνο, η ανάπτυξη αντισωμάτων κατά την παιδική και προεφηβική ηλικία, 1-15 ετών, που κατά κανόνα δεν υφίστανται σεξουαλικές σχέσεις, η συχνότητά τους κατά την κυρίως αναπαραγωγική ηλικία των 16-40 ετών η οποία χαρακτηρίζεται από εντονότερη σεξουαλική δραστηριότητα καθώς και η ανά 10ετία συχνότητά τους στις μετέπειτα ηλικίες.

Για την ευχερέστερη εκτίμηση των αποτελεσμάτων παρατίθενται γραφικές παραστάσεις και ιστογράμματα (σχήματα 1-16).

Όπως προκύπτει από τους αναλυτικούς πίνακες αποτελεσμάτων 1-28 και τον συνοπτικό πίνακα 31 σε 226 (16,14%) από τα 1.400 συνολικά εξετασθέντα δείγματα διαπιστώθηκαν IgG-αντισώματα έναντι του *C. trachomatis*. Επίσης 65 (4,7%) δείγματα απέβησαν θετικά για IgM- αντισώματα και 102 (7,29%) για IgA αντισώματα .

Από την κατά φύλο κατανομή των θετικών αποτελεσμάτων (πίνακες 29-30) προκύπτει ότι σε 92 (13,53%) από τα 700 εξετασθέντα άρρενα άτομα και σε 134 (19,14%) από τα 700 εξετασθέντα θήλεα άτομα διαπιστώθηκαν, IgG- αντισώματα έναντι του *C. trachomatis*.

Επίσης, από τους ίδιους πίνακες προκύπτει ότι σε 16 (2,3%) άρρενα άτομα και σε 49 (7%) θήλεα άτομα διαπιστώθηκαν, IgM-



αντισώματα και σε 49 (7%) άρρενα άτομα και σε 53 (7,57%) θήλεα άτομα, IgA- αντισώματα έναντι του *C. trachomatis*.

Ειδικότερα, από την ανάλυση των αποτελεσμάτων του πίνακα 29 προκύπτει ότι η συχνότητα IgG- οροθετικών έναντι *C. trachomatis* αρρένων νεογνών ηλικίας 0-5 μηνών είναι 14%. Η συχνότητα αυτή μειώνεται σε βρέφη ηλικίας 6-12 μηνών σε 10% και σε αγόρια ηλικίας 1-5 ετών σε 6%. Σε αγόρια ηλικίας 6-10 ετών και 11-15 ετών παραμένει στο ίδιο επίπεδο των 6%. Στην εφηβική ηλικία των 16-20 ετών παρατηρείται μία σημαντική αύξηση της συχνότητας IgG-αντισωμάτων σε 14%. Η συχνότητα αυτή παραμένει πρακτικά σταθερή μέχρι και την ηλικία των 36-40 ετών με μικρές αυξομειώσεις. Από την ηλικία των 41-45 ετών παρατηρείται μία σταθερή αύξηση της συχνότητας IgG-αντισωμάτων, η οποία φθάνει το 22% σε άτομα ηλικίας 56-60 ετών. Τα αποτελέσματα αυτά παρίστανται γραφικά στο ιστόγραμμα του σχήματος 11.

Από τους ίδιους πίνακες προκύπτει ότι IgM- αντισώματα διαπιστώνονται μετά τον πέμπτο μήνα σε συχνότητα 6% σε βρέφη ηλικίας 6-12 μηνών. Η συχνότητα των IgM- αντισωμάτων μειώνεται συνεχώς με την πάροδο της ηλικίας ώστε να μηδενίζεται σε άτομα ηλικίας άνω των 40 ετών. IgA- αντισώματα διαπιστώνονται επίσης μετά τον πέμπτο μήνα σε συχνότητα 2% σε βρέφη ηλικίας 6-12 μηνών, η συχνότητά τους παραμένει σταθερή στο ίδιο περίπου χαμηλό επίπεδο μέχρι την εφηβική ηλικία των 16-20 ετών στην οποία φθάνει το 6%. Στις επόμενες ομάδες ηλικιών η συχνότητα IgA- αντισωμάτων παρά τις αυξομειώσεις που παρατηρούνται παρουσιάζει όπως προκύπτει και από τον πίνακα 32 σχετική αύξηση, ώστε η μέση συχνότητα για άρρενα

άτομα ηλικίας 21-60 ετών να αντιστοιχεί σε 10,75%. Τα αποτελέσματα αυτά παρίστανται γραφικά στα ιστογράμματα των σχημάτων 13 και 15.

Επίσης, από την ανάλυση των αποτελεσμάτων του πίνακα 30 προκύπτει ότι η συχνότητα οροθετικών για IgG αντισώματα έναντι του *C. trachomatis* θηλέων νεογνών ηλικίας 0-5 μηνών είναι 20%. Η συχνότητα αυτή μειώνεται σε βρέφη ηλικίας 6-12 μηνών σε 12% και νήπια 1-5 ετών και αγόρια 6-10 ετών σε 8% και 5% αντίστοιχα. Στην προεφηβική ηλικία των 11-15 ετών παρατηρείται μία αύξηση της συχνότητας IgG-αντισωμάτων σε 10% η οποία φθάνει σε 24% στην εφηβική ηλικία των 16-20 ετών. Η συχνότητα αυτή με μικρές αυξομειώσεις παραμένει πρακτικά σταθερή μέχρι και την ηλικία των 56-60 ετών. Τα αποτελέσματα αυτά παρίστανται γραφικά στο ιστόγραμμα του σχήματος 12.

Από τους ίδιους πίνακες προκύπτει ότι IgM-αντισώματα διαπιστώνονται όπως και στα άρρενα βρέφη μετά τον πέμπτο μήνα σε συχνότητα 8% στην ηλικία των 6-12 μηνών. Η συχνότητα των IgM-αντισωμάτων μειώνεται περίπου στο ήμισυ στις επόμενες ομάδες ηλικιών και αυξάνεται σε 12% στην ηλικία των 16-20 ετών. Σε αντίθεση με τα άρρενα άτομα η συχνότητα IgM-αντισωμάτων στα θήλεα άτομα δεν ακολουθεί συνεχή καθοδική πορεία ώστε σε άτομα άνω των 40 ετών να μην ανιχνεύονται πλέον IgM-αντισώματα, αλλά παρά τις αυξομειώσεις που εμφανίζει μεταξύ των διαφόρων ομάδων ηλικιών παραμένει πρακτικά σταθερή μέχρι την ηλικία των 60 ετών σε ένα επίπεδο το οποίο κατά μέσον όρο προσεγγίζει το 8,5%. Τα αποτελέσματα αυτά παρίστανται γραφικά στο ιστόγραμμα του σχήματος



IgA- αντισώματα διαπιστώνονται επίσης μετά τον πέμπτο μήνα σε συχνότητα 2% σε βρέφη ηλικίας 6-12 μηνών. Αν και σε κορίτσια ηλικίας 1-5 ετών και 6-10 ετών δεν ανιχνεύθηκαν IgA-αντισώματα κρίνεται ότι πρακτικά η συχνότητά τους παραμένει σταθερή σε χαμηλό επίπεδο μέχρι την προεφηβική ηλικία των 11-15 ετών και στην εφηβική ηλικία των 16-20 ετών στις οποίες φθάνει το 4% και το 6% αντίστοιχα. Στις επόμενες ομάδες ηλικιών η συχνότητα IgA- αντισωμάτων παρά τις αυξομειώσεις που παρατηρούνται παρουσιάζει όπως προκύπτει και από τον πίνακα 33 σχετική αύξηση, ώστε η μέση συχνότητα για θήλεα άτομα ηλικίας 21-60 ετών να αντιστοιχεί σε 11,75%. Τα αποτελέσματα αυτά παρίστανται γραφικά στο ιστόγραμμα του σχήματος 16.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα των πινάκων 1-33, σύμφωνα με τα οποία IgG, IgM και IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis* διαπιστώθηκαν σε συχνότητα 16%, 4,7% και 7,29% αντίστοιχα, επί 1400 συνολικά (700 άρρενα και 700 θήλεα) εξετασθέντων ατόμων ηλικίας 0-60 ετών, οι μολύνσεις με *C. trachomatis* στην περιοχή της Ηπείρου είναι αρκετά συχνές και στα δύο φύλα.

Όπως προκύπτει από τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα αρρένων και θηλέων ατόμων (Πίνακας 32 και 33) στην ομάδα ηλικιών των 16-40 ετών παρατηρείται μια διαφορά IgG οροθετικών ατόμων μεταξύ ανδρών 13,2% και γυναικών 22,8%. Οι πρόσφατες επίσης μολύνσεις με *C. trachomatis* στην ίδια ομάδα είναι συχνότερες στις γυναίκες. Αυτό προκύπτει από την αναλογία IgM οροθετικών ατόμων η οποία στους άνδρες είναι 3,6% ενώ στις γυναίκες της αντίστοιχης ομάδας ηλικίας 8,4%.

Η συχνότητα IgG οροθετικών ατόμων αυξάνει στις επόμενες δύο ομάδες ηλικιών 41-50 ετών και 51-60 ετών χωρίς όμως να παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων. Αντίθετα ενώ στους άνδρες 41-60 ετών δεν διαπιστώθηκε η παρουσία IgM αντισωμάτων η οποία αποτελεί ένδειξη πρόσφατης μόλυνσης, στις γυναίκες διαπιστώθηκαν IgM αντισώματα σε αναλογία 13% για τις ηλικίες 41-50 ετών και 6% για τις ηλικίες 51-60 ετών.

IgA αντισώματα διαπιστώθηκαν σε αναλογία 7% του συνόλου των αρρένων ατόμων και 7,57% του συνόλου των θηλέων ατόμων.

Αν και IgA αντισώματα διαπιστώθηκαν συνολικά σε μεγαλύτερη συχνότητα από ότι IgM αντισώματα (7,29% έναντι 4,7%) δεν

παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων. Η μεγαλύτερη συχνότητα IgA αντισωμάτων διαπιστώθηκε και στα δύο φύλα στην ομάδα ηλικιών 16-40 ετών (άνδρες 7,6%, γυναίκες 8,8%).

Συνοψίζοντας τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρούμε ότι η μεγαλύτερη συχνότητα διαπίστωσης IgG, IgM και IgA αντισωμάτων και στα δύο φύλα αφορά στην ηλικία των 16-40 ετών κατά την οποία συνήθως παρατηρείται και η εντονότερη σεξουαλική δραστηριότητα. Η διαφορά μεταξύ των δύο φύλων δεν μπορεί να αποδωθεί στην εντονότερη σεξουαλική δραστηριοποίηση των γυναικών της αντίστοιχης ηλικίας, αλλά ίσως εξηγείται από τις ανατομικές διαφορές που υπάρχουν και χαρακτηρίζουν τα γεννητικά όργανα των δύο φύλων και καθιστούν τις γυναίκες περισσότερο ευαίσθητες στις μολύνσεις με το *C. trachomatis*.

Η συχνότητα με την οποία διαπιστώθηκαν και στα δύο φύλα IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis* (Πίνακας 32 και 33) σε βρέφη ηλικίας 0-5 μηνών (14%) και νήπια 6-12 μηνών (10%) για τα άρρενα και 20% και 12% για τα θήλεα αντίστοιχα, αποδίδεται στην παθητική μεταβίβαση αντισωμάτων διά μέσω του πλακούντα η οποία αφορά κυρίως τα βρέφη 0-5 μηνών χωρίς όμως να αποκλείεται και η περιγεννητική μόλυνση ιδιαίτερα των νηπίων ηλικίας 6-12 μηνών είτε από μητέρες με ενεργό λοίμωξη *C. trachomatis* είτε από το άμεσο περιβάλλον. Η τελευταία αυτή άποψη ενισχύεται από το γεγονός της διαπίστωσης IgM και IgA αντισωμάτων σε αναλογία 6% και 2% αντίστοιχα σε άρρενα νήπια ηλικίας 6-12 μηνών και 8% και 2% αντίστοιχα σε θήλεα νήπια της ίδιας ηλικίας ενώ σε κανένα από τα βρέφη και των δύο φύλων ηλικίας 0-5 μηνών δεν διαπιστώθηκαν και IgA αντισώματα.



Παρόμοιες έρευνες έχουν διεξαχθεί τόσο στην Ελλάδα όσο και στο εξωτερικό.

Στον Ελλαδικό χώρο οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί για την *C. trachomatis* δεν έχουν επιδημιολογικό χαρακτήρα. Συγκεκριμένα στην περιοχή της Ηπείρου οι Ψύλλας και συν. (1986) αναφέρουν 9 διαγνωσθέντα περιστατικά με χλαμυδιακή φλεγμονή του επιπεφυκότα. Μεταξύ των περιστατικών ήταν 5 άρρενες ηλικίας 7-50 ετών, 3 θήλεα ηλικίας 12-28 ετών και ένα νεογέννητο δύο εβδομάδων. Η εργαστηριακή διάγνωση έγινε με άμεσο μικροσκοπικό παρασκεύασμα (χρώση Giemsa ή Παπανικολάου).

Στην Ηπειρο επίσης οι Kostoula και συν. (1994) εξέτασαν 662 δείγματα από εσωτερικούς και εξωτερικούς ασθενείς του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Τα δείγματα ελήφθησαν από 535 γυναίκες και 87 άνδρες και εξετάσθησαν για *C. trachomatis* με άμεσο ανοσοφθορισμό. Από τα 662 δείγματα που εξετάσθησαν διαπιστώθηκε *C. trachomatis* στα 43 δηλ σε αναλογία 7%.

Στην Γυναικολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου της Θεσσαλονίκης οι Kalogeropoulos και συν. (1993) εξέτασαν 27 γυναίκες με αποφρακτική σαλπινγίτιδα και 23 γυναίκες με φυσιολογικές σάλπιγγες. Στην πρώτη ομάδα διαπιστώθηκαν IgG αντισώματα σε αναλογία 81,5% και στην δεύτερη σε αναλογία 43,5%. Οι ερευνητές αναφέρουν ότι η *C. trachomatis* μπορεί να ευθύνεται σε μεγάλο ποσοστό για τις περιπτώσεις σαλπινγίτιδας με επακόλουθο την στέρωση.

Στο τμήμα Γυναικολογίας του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών οι Chrysostomou και συν. (1992) εξέτασαν 49 γυναίκες με ανώμαλη κύηση, 56 γυναίκες με φυσιολογική κύηση και 20 γυναίκες με



πρωτοπαθή σαλπιδίτιδα. Η συχνότητα οροθετικών γυναικών ήταν για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis* στην πρώτη 75,5%, στην δεύτερη ομάδα 46,4% και στην τρίτη ομάδα 60%. Οι ερευνητές αναφέρουν ότι λοιμώξεις με *C. trachomatis* ενδέχεται να οδηγούν σε ανώμαλη κύηση.

Οι Κοντού-Καστελλάνου και συν. (1988) εξέτασαν με την ανοσοενζυματική μέθοδο ELISA σε διάστημα ενός χρόνου 200 δείγματα ορών από φυσιολογικές γυναίκες για την διαπίστωση IgG και IgA αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis*. Οι ερευνητές αναφέρουν ότι και τα 200 δείγματα απέβησαν αρνητικά. Αντίθετα ανίχνευσαν αντισώματα IgG σε αναλογία 16% και IgA σε αναλογία 8% σε δείγματα από 50 γυναίκες με τραχηλίτιδα.

Στην Θεσσαλονίκη οι Ζουρνατζή και συν. (1988) εξέτασαν 85 άνδρες ηλικίας 23-49 ετών που επισκέφθηκαν το Ιατρείο γονιμότητας της Β' Μαιευτικής και γυναικολογικής Κλινικής του ΑΠΘ, με ανοσοενζυματική μέθοδο για την διαπίστωση χλαμυδιακού αντιγόνου στο έκκριμα ουρήθρας και του σπερματικού υγρού. Σε 7 από τους 85 άνδρες (8,2%) το αποτέλεσμα απέβη θετικό.

Στο Μικροβιολογικό τμήμα του Περιφερειακού Νοσοκομείου Νίκαιας οι Παπαχριστοδούλου-Πάντου και συν. (1992) εξέτασαν για την διαπίστωση χλαμυδιακού αντιγόνου τραχηλικά επιχρίσματα από 451 γυναίκες με συμπτώματα τραχηλίτιδας ή κολπίτιδας καθώς και ιστορικό αποβολής και από 269 γυναίκες ασυμπτωματικές. Η συχνότητα θετικών αποτελεσμάτων ήταν με την μέθοδο ELISA 12,4% με τραχηλίτιδα, 7,6% με κολπίτιδα, 35% με ιστορικό αποβολών και 10% στις ασυμπτωματικές γυναίκες.



Στο Μικροβιολογικό εργαστήριο του Αρεταίειου Νοσοκομείου Αθηνών οι Κουρκουλή και συν. (1992) εξέτασαν 208 άνδρες με συμπτώματα ουρηθρίτιδος προστατίτιδος και 360 γυναίκες με συμπτώματα φλεγμονής του κατωτέρου γεννητικού συστήματος για την παρουσία-χλαμυδιακού αντιγόνου. Η αναζήτηση έγινε σε ουρηθρικά και τραχηλικά επιχρίσματα με DNA-RNA υβριδισμό ο οποίος μετρήθηκε με χημειοφωταύγεια. Η παρουσία αντιγόνου *C. trachomatis* διαπιστώθηκε σε 30 άνδρες (14,4%) και σε 34 γυναίκες (9,4%).

Στο Γενικό Περιφερειακό Νοσοκομείο «Ασκληπιείο» Βούλας οι Οικονόμου και συν. εξέτασαν 350 δείγματα ασθενών ύποπτων για μόλυνση με *C. trachomatis*. Τα δείγματα εξετάστηκαν για χλαμυδιακό αντιγόνο με την τεχνική του άμεσου ανοσοφθορισμού. Από τα 34 παιδιά που εξετάστηκαν δεν διαπιστώθηκε χλαμυδιακό αντιγόνο σε κανένα, ενώ από τους 102 ενήλικες διαπιστώθηκε χλαμυδιακό αντιγόνο σε αναλογία 42%.

Ανάλογες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί και στην Ευρώπη. Στην Αγγλία οι Moss και συν. (1993) εξέτασαν 7002 ανεπίλεκτα δείγματα ορών, τα οποία συγκέντρωσαν από τον Μάιο του 1983 έως τον Μάιο του 1990. Τα δείγματα εξετάστηκαν με την μέθοδο του μικροανοσοφθορισμού για IgG και IgM αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών ατόμων ήταν 32,6% για IgG αντισώματα και 2,5% για IgM αντισώματα.

Στην ίδια χώρα οι Bourke και συν. (1992) εξέτασαν με την μέθοδο ELISA 371 δείγματα ορών αγροτών για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών ατόμων στην ομάδα αυτή του πληθυσμού ήταν 5,4%.

Άλλη ομάδα 255 αγροτών από την Ν.Δ. Αγγλία εξετάσθηκε από τους Hobson και συν. (1988) για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Οι ερευνητές αυτοί διαπίστωσαν με την ανοσοενζυμική μέθοδο αντισώματα σε αναλογία 24%.

Στην Γαλλία σε μία οροεπιδημιολογική μελέτη που πραγματοποίησαν οι Benabbou και συν. (1989) εξετάσθηκαν 1000 δείγματα ορών από γυναίκες και παιδιά με την μέθοδο του ανοσοφθορισμού για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών γυναικών ήταν 18,8% και οροθετικών παιδιών 6,6%.

Στο Βέλγιο οι Van-den-Abeelee και συν. (1992) εξέτασαν 131 φοιτητές της Ιατρικής Σχολής του Chent μεταξύ Μαρτίου και Οκτωβρίου του 1990 με την μέθοδο του μικροανοσοφθορισμού για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Το ποσοστό των οροθετικών ατόμων ήταν 13%.

Στην Φιλανδία οι Gencay και συν. (1995) διαπίστωσαν σε 15 από 274 γυναίκες της ευρύτερης περιοχής του Ελσίνκι IgM αντισώματα έναντι *C. trachomatis* (5,47%).

Στην Γιουγκοσλαβία οι Jerant-Patic και συν. (1990) εξέτασαν με την μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα 288 δείγματα κολπικού επιχρίσματος από ισάριθμες γυναίκες ηλικίας 19-67 ετών και διαπίστωσαν χλαμυδιακό αντιγόνο σε αναλογία 29,51%.

Στην Ουγγαρία ο Deak (1994) εξέτασε 180 δείγματα ορών γυναικών με την μέθοδο του μικροανοσοφθορισμού για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Το ποσοστό των οροθετικών γυναικών σε αυτή την έρευνα ήταν 24,4%.



Στην Πολωνία οι Kazanowska και συν. (1993) εξέτασαν 180 δείγματα γυναικών με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών γυναικών ήταν 17,22% . .

Στην Ιταλία οι Olliago και συν. (1994) εξέτασαν 139 δείγματα ορών γυναικών με την μέθοδο ανοσοφθορισμού ηλικίας 20 -41 ετών για IgG και IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών γυναικών ήταν 28% για IgG αντισώματα και 16,5% για IgA αντισώματα.

Στην Σουηδία οι Osser και Persson (1996) εξέτασαν με την μέθοδο του ανοσοφθορισμού 349 δείγματα ορών γυναικών για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η αναλογία οροθετικών γυναικών ήταν 33,2%.

Στην ίδια χώρα οι Thejls και συν. (1995) εξέτασαν με την μέθοδο του άμεσου ανοσοφθορισμού 256 δείγματα ορών κοριτσιών για IgG και IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών κοριτσιών ήταν 6,6% για IgG αντισώματα και 2% για IgA αντισώματα.

Στην Γερμανία οι Ludwig και συν. (1996) εξέτασαν με την μέθοδο του ανοσοφθορισμού 101 δείγματα ορών ανδρών για IgG και IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών ανδρών για IgG και IgA αντισώματα ήταν 26% και 15% αντίστοιχα.

Στην ίδια χώρα οι Clad και συν. (1994) εξέτασαν συγκριτικά 100 δείγματα ορών για IgG και IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis* με την μέθοδο του ανοσοφθορισμού και την τεχνική ImmunoComb. Με την μέθοδο του ανοσοφθορισμού η αναλογία θετικού για IgG και IgA αντισώματα δειγμάτων ήταν 10% και 8% αντίστοιχα και με την τεχνική ImmunoComb 11% και 4% αντίστοιχα.

Επίσης στην Γερμανία οι Freidank και Brauer εξέτασαν με την μέθοδο του μικροανοσοφθορισμού για IgG αντισώματα έναντι

trachomatis 353 δείγματα ορών από Φοιτητές της Ιατρικής Σχολής με μέση ηλικία 24 ετών. Τα δείγματα που ελήφθησαν εξετάσθηκαν. Η συχνότητα οροθετικών φοιτητών ήταν 5,9%.

Στο Ισραήλ στα πλαίσια ενός κοινωνικού υγειονομικού προγράμματος που έγινε το 1985 σε 12 περιοχές της χώρας οι Chaim και συν. (1992) εξέτασαν 860 δείγματα ορών γυναικών. Τα δείγματα εξετάσθηκαν με την μέθοδο του ανοσοφθορισμού για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών γυναικών ήταν 2,4%.

Στην Αφρική έχουν διεξαχθεί ενδιαφέρουσες μελέτες για την συχνότητα των αντισωμάτων έναντι της *C. trachomatis*. Συγκεκριμένα στο Μαρόκο οι Takouit και συν. (1995) εξέτασαν 400 δείγματα ορών με την μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Τα άτομα από τα οποία ελήφθησαν οι οροί ανήκαν σε δύο ομάδες ηλικιών (20-29 ετών και 30-39 ετών) και αντιπροσώπευαν και τα δύο φύλα. Η συχνότητα οροθετικών ατόμων και στις δύο ομάδες ηλικιών και ανεξάρτητα από το φύλο ήταν 12,5 %

Στη Νέα Γουινέα οι Theunissen και συν. (1995) εξέτασαν με την μέθοδο του ανοσοενζυμικού φθορισμού δείγματα ορών 254 γυναικών για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η έρευνα έγινε στα πλαίσια του οικογενειακού προγραμματισμού και τα αποτελέσματα απέβησαν θετικά στο 14,6% των γυναικών.

Στο Σουδάν σε μία οροεπιδημιολογική μελέτη που έγινε από τους Mahmoud και συν. (1994) διαπιστώθηκαν IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis* σε 448 παιδιά ηλικίας 4 μηνών έως 15 ετών σε συχνότητα 81% . Η συχνότητα αυτή σε 616 ενήλικες που εξετάσθηκαν στα πλαίσια της ίδιας έρευνας ήταν 67%.



Στο Κογκό οι Biendo και συν. (1994) εξέτασαν 216 γυναίκες στις οποίες συμπεριλαμβάνονταν άτομα υψηλού κινδύνου για σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα και φυσιολογικά άτομα. Για την εξέταση των δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκαν η μέθοδος ELISA και ο μικροανοσοφθορισμός (MIF). Η συχνότητα των IgG αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* στην πρώτη ομάδα ήταν 87% με MIF και 76% με ELISA, και στην δεύτερη ομάδα ήταν 64,8% με MIF και 53,7% με ELISA.

Σε διάφορες χώρες της Ασίας έχουν επίσης διεξαχθεί έρευνες για την συχνότητα αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis*. Στην Ινδία οι Gogate και συν. (1994) σε 365 δείγματα ορών από μη εγκυμονούσες γυναίκες αλλά με βεβαρυμένο γυναικολογικό ιστορικό διαπίστωσαν με την μέθοδο ELISA αντιγόνο *C. trachomatis* σε αναλογία 28,2%.

Στην Κίνα οι Zhao και συν. (1994) εξέτασαν με την τεχνική της έμμεσης παθητικής αιμοσυγκόλλησης 1284 δείγματα ορών ατομών για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα θετικών αποτελεσμάτων ήταν 18,22%. Στην ίδια χώρα το 1992 από τον ίδιο επιστήμονα σε 239 ασθενείς Νοσοκομείου διαπιστώθηκαν με την ίδια τεχνική IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis* σε αναλογία 27,62%.

Στην Ιαπωνία οι Numazaki και συν. (1992) διαπίστωσαν με ανοσοενζυμική μέθοδο (EIA) σε 223 δείγματα ορών βρεφών και παιδιών με πνευμονία IgM αντισώματα έναντι *C. trachomatis* σε αναλογία 21,5%.

Στην Ιαπωνία οι Takaba και συν. (1991) διαπίστωσαν με την μέθοδο της έμμεσης ανοσοϋπεροξειδάσης IgG και IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis* σε αναλογία 11,9% και 2,4% αντίστοιχα σε άνδρες σε αναλογία 18,1% και 4,8% αντίστοιχα σε γυναίκες.

Στην Ιαπωνία, επίσης, ο Utsuno (1991) εξέτασε με την ανοσοενζυμική μέθοδο, 1812 δείγματα ορών ατόμων ηλικίας 0-68 ετών για IgG και IgA αντισώματα έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών ατόμων ήταν 29,7% για IgG και 11,2% για IgA αντισώματα. Ο ερευνητής αναφέρει ότι παρατήρησε δύο σημεία έξαρσης της συχνότητας των οροθετικών ατόμων. Το πρώτο αφορούσε τις ηλικίες κάτω του ενός έτους και αποδώθηκε σε οφθαλμικές χλαμυδιακές λοιμώξεις που έχουν σχέση με τον τοκετό και το δεύτερο τις ηλικίες 20-24 ετών και αποδώθηκε στην έντονη σεξουαλική δραστηριότητα σε αυτή την ηλικία.

Οι ερευνητές Ouchi K. Kanamoto Y. και Ushio M. (1991) στην Χιροσίμα της Ιαπωνίας μελέτησαν την συχνότητα IgG αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* σε σύνολο 1330 ατόμων. Τα άτομα από τα οποία ελήφθησαν τα δείγματα ορού ήταν χωρισμένα σε τρεις ομάδες ηλικιών (6 μηνών - 7 ετών, 8-15 ετών και 15 ετών και άνω). Τα δείγματα εξετάσθηκαν με την τεχνική του μικροανοσοφθορισμού. Στην ομάδα ηλικιών 6 μηνών έως 7 ετών η συχνότητα οροθετικών ατόμων ήταν 1-2%, στην ομάδα ηλικιών 8-15 ετών 0% και στους ενήλικες 10%.

Στην Αμερική, οι Witkin και συν. (1995) εξέτασαν με την ανοσοενζυμική μέθοδο 227 δείγματα ορών ασυμπτωματικών γυναικών που επισκεύθηκαν την Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Cornell της Νέας Υόρκης. Οι ερευνητές αυτοί διαπίστωσαν IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis* σε αναλογία 21,5% και IgA αντισώματα σε αναλογία 14,5% , των εξετασθέντων γυναικών.

Στο Queen Elizabeth Hospital των νησιών Μπαρμπάντος ο Levett (1994) εξέτασε με την ανοσοενζυμική μέθοδο 256 δείγματα ορών για την διαπίστωση IgG και IgA αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis*. Η



συχνότητα οροθετικών ατόμων στις ηλικίες 9 μηνών – 13 ετών ήταν 13,4% για IgG και 1% για IgA αντισώματα, στις ηλικίες 14-18 ετών 50% για IgG και 1% για IgA αντισώματα και στους ενήλικες 76% για IgG και 16% για IgA αντισώματα.

Στον Καναδά οι Claman και συν. (1995) εξέτασαν με την μέθοδο του ανοσοφθορισμού 103 δείγματα ορών γυναικών για IgG αντισώματα έναντι *C. trachomatis* στο νοσοκομείο της Οππάβα. Η συχνότητα οροθετικών γυναικών ήταν 20%.

Στην Αργεντινή οι Videla και συν. (1994) εξέτασαν με έμμεσο ανοσοφθορισμό για IgG και IgM αντισώματα έναντι *C. trachomatis* 32 δείγματα ορών από στείρες γυναίκες και 83 δείγματα ορών από έγκυες γυναίκες. Η συχνότητα οροθετικών γυναικών στην πρώτη ομάδα ήταν 75% για IgG και 15,6% για IgA αντισώματα και στην δεύτερη ομάδα 20,5% και 4,8% αντίστοιχα.

Στην Αυστραλία οι Hodgson και συν. (1990) εξέτασαν με ανοσοενζυμική μέθοδο (EIA) 1005 δείγματα ορών γυναικών και 354 δείγματα ορών σεξουαλικών συντρόφων για την διαπίστωση IgG αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis*. Η συχνότητα οροθετικών γυναικών ήταν 12,4% και οροθετικών ανδρών 4,2%.

Οι έρευνες που έχουν διεξαχθεί στον Ελλαδικό χώρο δεν έχουν όπως ήδη αναφέρθηκε επιδημιολογικό χαρακτήρα και αφορούν κυρίως στην διαπίστωση είτε χλαμυδιακού αντιγόνου είτε αντισωμάτων σε άτομα ύποπτα για μόλυνση με *C. trachomatis*. Γι' αυτό το λόγω τα αποτελέσματά τους δεν είναι άμεσα συγκρίσιμα με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας. Από την συνολική τους όμως ανάλυση προκύπτει ότι οι μολύνσεις με *C. trachomatis* είναι αρκετά διαδεδομένες στην Ελλάδα.

Αυτό ενισχύεται και από τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας σύμφωνα με τα οποία IgG αντισώματα διαπιστώθηκαν σε αναλογία 13,53% σε άρρενα άτομα και 19,14% σε θήλεα άτομα ηλικίας 0-60 ετών.

Στον Ευρωπαϊκό χώρο έχουν διεξαχθεί παρόμοιες έρευνες με επιδημιολογικό χαρακτήρα. Οι ερευνητές όμως χρησιμοποίησαν διαφορετικές μεθοδολογίες γεγονός το οποίο δυσχεραίνει την άμεση σύγκριση των αποτελεσμάτων για την εξαγωγή συγκριτικών επιδημιολογικών συμπερασμάτων. Κατά γενικό όμως κανόνα τα αποτελέσματά τους δεν διαφέρουν σημαντικά από τα αντίστοιχα αυτής της εργασίας. Αυτό προκύπτει από την συγκριτική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των ερευνών που αφορούσαν σε φυσιολογικά άτομα, καθορισμένου φύλου και ηλικίας ώστε η αντιπαράβολή τους να είναι εφικτή.

Το ίδιο ισχύει, πλήν ελαχίστων εξαιρέσεων που αφορούσαν σε υποανάπτυκτες περιοχές, για τα αποτελέσματα παρόμοιων ερευνών που διεξείχθησαν στην Αμερική, Αυστραλία και Ασία.

Αντίθετα στην Αφρική, παρουσιάζονται πιο έντονες διαφορές μεταξύ των διαφόρων κρατών και ενώ σε ορισμένα από αυτά όπως το Μαρόκο και η Νέα Γουινέα η συχνότητα διαπίστωσης αντισωμάτων έναντι *C. trachomatis* κυμαίνεται στα ίδια περίπου επίπεδα με τα προαναφερθέντα για τις άλλες Ηπείρους, σε άλλα όπως το Σουδάν και το Κογκό το ποσοστό οροθετικών ατόμων κυμαίνεται από 50% έως 80%.

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτής της εργασίας και την σύγκρισή τους με τα προαναφερθέντα αποτελέσματα των άλλων ερευνών προκύπτουν συνοπτικά τα εξής συμπεράσματα.



- Οι μολύνσεις με *C. trachomatis* είναι αρκετά διαδεδομένες σε όλες τις Ηπείρους.
- Οι μολύνσεις με *C. trachomatis* στην περιοχή της Ηπείρου κυμαίνονται στα ίδια περίπου επίπεδα με τα αυτά άλλων περιοχών της Ελλάδας και ξένων χωρών με αντίστοιχη Υγειονομική, Οικονομική και Κοινωνική ανάπτυξη.
- Η συχνότητα μολύνσεων με *C. trachomatis* συσχετίζεται άμεσα με την σεξουαλική δραστηριότητα.
- Οι γυναίκες είναι πιο ευαίσθητες σε μόλυνση με *C. trachomatis*.
- Διαπιστώνεται περιγεννητική μετάδοση της *C. trachomatis* σε βρέφη και ιδιαίτερα σε νήπια είτε από μητέρες με ενεργό λοίμωξη είτε από το άμεσο περιβάλλον.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το *Chlamydia trachomatis* έχει αναγνωρισθεί ως η κυριότερη αιτία στις μη γονοκοκκικές ουρηθρήτιδες και επιδιδυμίτιδες στους άνδρες, στις τραχηλίτιδες και οξείες σαλπινγίτιδες στις γυναίκες, στην επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα και σε τυπικές μορφές πνευμονίτιδας στα παιδιά.

Σκοπός αυτής της εργασίας υπήρξε η χρησιμοποίηση της ανοσοενζυμικής μεθόδου για τον προσδιορισμό IgG, IgM και IgA αντισωμάτων έναντι της *C. trachomatis*, ώστε να καταστεί δυνατή η διαπίστωση της συχνότητας των μολύνσεων και η επιδημιολογική αξιολόγηση της συχνότητας μολύνσεων με *C. trachomatis*, κατά φύλο και πενταετία ηλικίας στην περιοχή της Ηπείρου..

Υλικό για αυτή την εργασία απετέλεσαν 1.400 δείγματα ορών με ισάριθμη κατά φύλο και ομάδα ηλικίας κατανομή, ανά πενταετία. Η κάθε πενταετία από 1-60 ετών και οι ομάδες ηλικίας από 0-5 και 6-12 μηνών να αντιπροσωπεύονται από 50 δείγματα ορών για κάθε φύλο.

Για τον προσδιορισμό ειδικών αντισωμάτων έναντι του *C. trachomatis* χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA) με αντιδραστήρια του οίκου VIROTECH.

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτής της εργασίας και την σύγκρισή τους με αποτελέσματα άλλων ερευνών προκύπτουν συνοπτικά τα εξής συμπεράσματα.

- Οι μολύνσεις με *C. trachomatis* είναι αρκετά διαδεδομένες σε όλες τις Ηπείρους.

- Οι μολύνσεις με *C. trachomatis* στην περιοχή της Ηπείρου κυμαίνονται στα ίδια περίπου επίπεδα με τα αυτά άλλων περιοχών της Ελλάδας και ξένων χωρών με αντίστοιχη Υγειονομική, Οικονομική και Κοινωνική ανάπτυξη.
- Η συχνότητα μολύνσεων με *C. trachomatis* συσχετίζεται άμεσα με την σεξουαλική δραστηριότητα.
- Οι γυναίκες είναι πιο ευαίσθητες σε μόλυνση με *C. trachomatis*.
- Διαπιστώνεται περιγεννητική μετάδοση της *C. trachomatis* σε βρέφη και ιδιαίτερα σε νήπια είτε από μητέρες με ενεργό λοίμωξη είτε από το άμεσο περιβάλλον.



SUMMARY

DETECTION OF ANTIBODIES TO CHLAMYDIA TRACHOMATIS USING AN ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA).

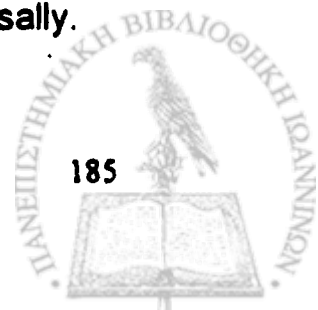
Chlamydia trachomatis has been recognized as the main cause of non-gonococcal urethritis and epididymitis in men, of cervicitis and acute salpingitis in women, of inclusion conjunctivitis and in typical pneumonitis in children. The scope of the present research work was the use of an immunoenzymatic method for the detection of IgG, IgM and IgA antibodies to *C. trachomatis*, in order to find the occurrence of infection and to evaluate the incidence of contamination with *C. trachomatis* according to sex and age, using seroepidemiological data.

One thousand and four hundred (1400) sera samples equally distributed per age and sex group ages 1-60 years and the age groups 0-5 and 6-12 months were represented by 50 sera samples from every sex group.

An Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) manufactured by VIROTECH was used for the detection of *C. trachomatis*.

The analysis of results indicate that:

1. The contamination with *C. trachomatis* is quite common univesally.



2. The contamination rate with *C. trachomatis* in the area of Epirus (NW Greece) is within the same range as the rest areas of Greece and in other countries with similar Health Services and socio-economic development.
3. The incidence of *C. trachomatis* contamination is directly connected with the sexual life.
4. Females are more prone to infection with *C. trachomatis*.
5. Babies are infected either by their infected mothers or from their immediate environment.



BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

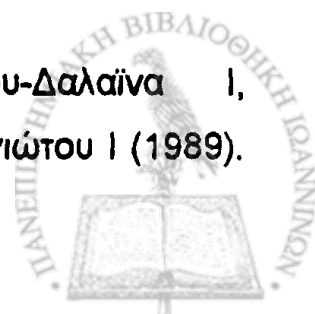
1. Abrams AJ (1968). Lymphogranuloma venereum. J. Am. Med. Assoc. 205,199-202.
2. Απαντα, Γ. Πουρναλόπουλου: Ιπποκράτης.
3. Banks JR, Vanden Driesen G and Starke E (1985). Chlamydia trachomatis in smears from eyes ears and throats of children with chronic otitis media. Lancet II,278.
4. Barton SE, Thomas BJ, Taylor-Robinson D and Golmeier D (1985). Detection of Chlamydia trachomatis in the vaginal vault of women who have had hysterectomies. Br. Med. Clin. Res. 291,250.
5. Beem MO and Saxon EM (1977). Respiratory tract colonisation and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with Chlamydia trachomatis. New Engl. J. Med. 296,306-10.
6. Beem MO, Saxon EM and Tipple MA (1979). Treatment of Chlamydia pneumonia of infancy. Pediatrics 63, 198-203.
7. Benabou L., Verdier M., Leonard G., Sangare A., Gershy-Damet GM., Mounier M., Re JL., Terrot C., Denis F. Serologic survey on Chlamydia trachomatis in different populations of the Ivory Coast. Pathol.Biol.Paris.1989 Mar.37(3):189-94.
8. Berger RE, Alexander ER, Monda GD, Ansell J, McCormick G and Holmes KK (1978). Chlamydia trachomatis as a cause of acute "idiopathic" epididymitis. New Engl. J. Med. 298,301-4.
9. Biendo M., Orfila J. Serodiagnosis of Chlamydia trachomatis and Chlamydia pneumoniae. Bull. Soc. Pathol. Exot. 1994. 87(2):81-4.

10. Blyth W and Tavme J (1974). Cultivation of TRIC agents: a comparison between the use of BHK 21 and irradiated McCoys cells. *J. Hyg. (Cambridge)* 72,121-8.
11. Bourke SJ., Carrington D., Frew CE., McSharry CP., Boyd G. A comparison of the seroepidemiology of chlamydial infection in pigeon fanciers and farmers in the U.K. *J. Infection*. 1992 Jul. 25 Suppl 1: 91-8.
12. Bowie WR and Jones H (1981). Acute pelvic inflammatory disease in patients: association with *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Ann. Intern. Med.* 95,685-8.
13. Byrne GL and Moulder JW (1978). Parasite-specified phagocytosis of *C. psittaci* and *C. trachomatis* by L an HeLa cells. *Infect. Immun.* 19,598-606.
14. Caldwell HD, Kromhout J, Schachter J (1981). Purification characterization of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. *Infect. Immun.* 31,1161-76.
15. Caldwell HD and Schachter J (1983). Immunoassay for detecting *Chlamydia trachomatis* major out membrane protein. *J. Clin. Microbiol.* 18,539-45.
16. Centers for Disease Control (1985). *Chlamydia trachomatis* infection. Policy Guidelines for Prevention and Control. *Morbid. Mortal. Weekly Rep* 34,53s-74s.
17. Chaim W., Edelstein Z., Sarov I. The long term follow-up of asymptomatic women with *Chlamydia trachomatis*. *Arch. Gynecol. Obstet.* 1992.251(4):159-64.
18. Clad A., Freidank H., Plunnecke J., Jung B., Petersen EE. *Chlamydia trachomatis* species specific serology: ImmunoComb *Chlamydia* bivalent versus microimmunofluorescence. *Infection*. 1994 May-Jun. 22(3):165-73.



19. Claman P., Toye B., Peeling RW., Jessamine P., Belcher J. Serologic evidence of Chlamydia trachomatis infection and risk of preterm birth. *Can. Med. Assoc. J.* 1995 Aug.1;152(3): 259-62.
20. Collier LH, Duke-Elder S, Jones BR (1958). Experimental trachoma produced by culture virus. *Br. J. Ophthalmol.* 42,705-20.
21. Conway D, Glazener CM, Caul ED, Hodgson J, Hull MG, Clarke SK and Stirrat GM (1984). Chlamydial serology in fertile and infertile women. *Lancet I*, 191-93.
22. Croy TR, Kuo CC and Wang SP(1975).Comparative susceptibility of eleven mammalian cell lines to infection with trachoma organisms.*J.Cl.Microbiol.*1,434-9.
23. Chrysostomou M.,Karafyllidi P.,Papadimitriou V.,Bassiotou V.,Mayakos G. Serum antibodies to Chlamydia trachomatis in women with ectopic pregnancy,normal pregnancy or salpigitis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 1992 April. 21,44(2):101-5.
24. Darougar S (1977). Chlamydia conjunctivitis in infants. In Hosbon D and Holmes KK (ed) *Non gonococcal urethritis and related infections* p. 162 (discussion) American Society for Microbiology, Washington DC.
25. Darougar S, Cubbit S, and Jones BR (1974). Effect of high speed centrifugation on the sensitixity of irradiated McCoy cell culture for the isolation of Chlamydia. *Br. J. Vener. Dis.* 50, 308-12.
26. Darougar S, Jones BR, Kinnison JR, Vaughan-Jackson JD and Dunlop EM (1972). Chlamydia infection. Advances in the diagnostic isolation of Chlamydia, including TRIC agent from the eye, genital tract and rectum. *Br. J. Vener. Dis.* 48,416-20.
27. D' Auria A and Alcid D (1986). Letters to the Editors. *Cl. Microbiol. News letter* 8, 1181-82.

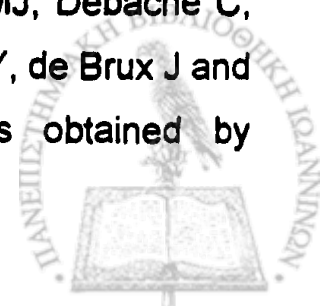
28. Deak J. Determination of serotype-specific antibodies to *Chlamydia trachomatis* using a microimmunofluorescence method. *Acta Microbiol. Immunol. Huhg.* 1994 41(3): 255-8.
29. Dhir SP, Hakomori S, Kenny GE, Grayston JT (1972). Immunochemical studies on chlamydial group antigen. *J. Immunol.* 109,116-22.
30. Duke-Elbers S (1965). *Diseases of the Outer Eye System of Ophthalmology*, 8,1,260 Kimpton London.
31. Dunlop EMC, Darougar S, Hare MJ, Treaharne JD and Dwyer R St. C (1972). Isolation of *Chlamydia* from the urethra of a woman. *Br. Med. J.* 1,386.
32. Dunlop EMC, Harper IA, Al-Hussaini MK, Garland JA, Treaharne JD, Wright DJM and Jones Br (1966). Relation of TRIC agent to "non-specific" genital infection. *Br. J. Vener. Dis.* 42,77-87.
33. Evans RT and Woodland RM (1983). Detection of *Chlamydia* by isolation and direct examination. *Br. Med. Bull.* 38,181-86.
34. Fehr (1900). Endemische bad konjunktivitis Berliner Klinische Wochenschrift 37,10-11.
35. Finn MP, Ohlin A and Schachter J (1983). Enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin G and M antibodies to *Chlamydia trachomatis* in human sera. *J. Clin. Microbiol.* 17,842-52.
36. Φραντζίδου-Αδαμοπούλου Φ, Κλεάρχου Ν, Πετεινίδης Ε, Δίζα-Ματαυτσή Ε, Καλογερόπουλος Α (1990). Ο ρόλος των χλαμυδιακών λοιμώξεων σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Πρακτικά 6^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Περιγεννητικής Ιατρικής, Πάτρα, Μάρτιος-Απρίλιος 1990, No 16.
37. Φραντζίδου-Αδαμοπούλου Φ, Κυριαζοπούλου-Δαλαΐνα Ι, Δουμπόγιας Ι, Ε Σούλιου-Συμεωνίδου, Παπαπαναγιώτου Ι (1989).



Διάγνωση χλαμυδιακών γυναικολογικών λοιμώξεων στο Ιολογικό εργαστήριο, Πρακτικά 1^{ου} Πανελληνίου Ιολογικού Συνεδρίου, Θεσσαλονίκη, Νοέμβριος 1989.

38. Freedman A, Al-Hussaini MK, Dunlop EMC, Emarah MHM, Garland JA, Harper A, Jones BR, Race JW, du Toit MS, Trehane JD and Wright DJM (1966). Infection by TRIC agent and other members of the Bedsonia group. Trans. Ophthalmol. Soc. (U.K.) 86,313-20.
39. Freidank HM., Brauer D. Prevalence of antibodies to Chlamydia pneumoniae TWAR in a group of German medical students. J. Infect. 1993 Jul.27(1):89-93.
40. Gencay M., Koskiniemi M., Saikku P., Puolakkainen M., Raivio K., Koskela P., Vaheiri A. Chlamydia trachomatis seropositivity during pregnancy is associated with perinatal complications. Clin. Infect. Dis. 1995 Aug 21(2):424-6.
41. Gjonnaess H, Dalaker K, Anestad G, Mardh PA, Kville G and Bergan JA (1982). Pelvic inflammatory disease Etiological studies with emphasis on chlamydial infection. Obstet. Gynecol. 59,550-5.
42. Gordon FB, Harper IA, Quan AL, Treharne JD, Dwyer RStC and Garland JA (1969). Detection of Chlamydia (Bedsonia) in certain infections of man. Laboratory procedures, comparison of yolk sac and cells. J. Infect. Dis. 120,451-62.
43. Gordon FB and Quan AL (1962). Drug susceptibilities of the psittacosis and trachoma agents. Ann. NY. Acad. Sci. 981, 261-70.
44. Gordon FB and Quan AL (1965). Isolation of trachoma agents in cell culture. Proc. Exp. Biol. NY 118,354-9.
45. Gotate A., Deodhar LP., Shah PK., Vaidya P. Detection of Chlamydia trachomatis & Toxoplasma gondii (IgM). Indian. J. Med. Res. 1994 Jul. 100:19-22.

46. Grayston JT and Wang SP (1975). New knowledge of chlamydia and diseases they cause. *J. Infect. Dis.* 132,87-105.
47. Grump RC (1985). *Chlamydia trachomatis* as a cause of prepubertal vaginitis. *Obstet. Gynecol.* 65,384-8.
48. Halberstaedter L and von Prowazek S (1907). *Über zelleinschlüsse parasitärer natur beim Trachom.* *Arbeiten ans dem Kaiserlichen Gesundheitsamke* 26,44-47.
49. Hanna L, Dawson CR, Briones O, Thygeson P and Ja Wetz E (1968). Latency in human infections with TRIC agents. *J. Immunol.* 101,43-50.
50. Harrison HR, English MG, Lee CK and Alexander ER (1978). *C. trachomatis* infant pneumonitis. *New Engl. J. Med.* 298,702-8.
51. Hatch TP (1975). Utilization of L-cell nucleoside triphosphates by *Chlamydia psittaci* for ribonucleic acid synthesis. *J. Bacteriol.* 122,393-400.
52. Hatch TP (1975). Competition between *C. psittaci* and L cells for host isoleucine pools: a limiting factor in chlamydial multiplication. *Infect. Immun.* 12,211-9.
53. Heggie AD, Stuart LA (1980). Comparison of effectiveness of topical sulfacetamide and oral erythromycin in treatment of *Chlamydia trachomatis* conjunctivitis. *Pediatr. Res.* 14,558.
54. Heisterberg L, Moller BR, Manthorpe T, Sorensen SS, Petersen K and Nielsen NC (1985). Prophylaxis with lymecycline in induced first trimester abortion: a clinical , controlled trial assesseng the role of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma hominis*. *Sex. Transm. Dis.* 12,72-75.
55. Henry-Suchet J, Catalan F, Loffredo V, Sanson MJ, Debache C, Piseau F, Coppin R, Serafaty D, Siboulet A, Perol Y, de Brux J and Poynard T (1980). Microbiology of specimens obtained by



- laparoscopy from controls and from patients with pelvic inflammatory disease or infertility: Chlamydia trachomatis and Uteoplasma urealyticum. Am. J. Obstet. Gynecol. 138,1022-25.
56. Hilton AL, Richmond SJ, Milne JD, Hindley F and Clarke SKR (1974). Chlamydia A in the female genital tract. Br. J. Vener.Dis. 50,1-9.
 57. Hipp SS, Han Y and Murphy D (1987). Assesment of Enzyme Immynoassay and Immunofluorescence tests for detection of Chlamydia trachomatis. J. Clin. Microbiol. 25, 1938-43.
 58. Hobson D, Johnson FWA, Rees E and Tait IA (1974).Simplified method for diagnosis of genital and ocular infections with Chlamydia. Lancet II, 555-6.
 59. Hobson D., Morgan-Capner P. Chlamydial antibodies in farmes in north-west England. Epidemiol. Infect. 1988 Oct. 101(2):397-404.
 60. Hodgson R , Driscoll GL, Doodd JK, Tyler JP. Chlamydia trachomatis: the prevalence, trend and importance in initial infertility management. Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol. 1990 Aug. 30(3):251-4.
 61. Holmes KK, Handsfield HH, Wang SP, Wentworth BB, Turck M, Anderson JB and Alexander ER (1975). Etiology of non-gonococcal urethritis. New Engl. J. Med. 292, 1199-1206.
 62. Hypia T, JalavaA, Larsen SH, Terho P and Hukkanen V (1985). Detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens by nucleid acid spot hybridisation. J. Gen. Microbiol. 131, 1-4.
 63. Jawetz E (196). Chemotherapy of chlamydia ifections. Advan. Pharmacol. Chemother. 12,253-82.
 64. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA (1980). Review of Medical Microbiology Lange. Med. Pupl. 14th edition.



65. Jerant-Patic V., Ziramov J., Vujkov V., Hrnjakovic-Cvijetkovic I., Popovic S. Chlamydia trachomatis in women. Vojnosanit. Pregl. 1990 May-Jun.47(3):167-72.
66. Johannison G, Sernd A and Lycke E (1979). Susceptibility of C. trachomatis to antibiotics in vitro and in vivo. Sex. Transm. Dis. 6,50-57.
67. Johnos FWA and Hobson D (1976). Factors affecting the sensitivity of replicating McCoy cells in the isolation and growth of Chlamydia. A. J. Hyg. (Cambridge) 76, 441-451.
68. Jones BR (1964). Ocular syndromes of TRIC virus infection and their possible genital significance. Br. J. Vencer. Dis. 40,3-18.
69. Jones MF, Smith TF, Hougum AJ and Herrmann JE (1984). Detection of Chlamydia trachomatis in genital specimens by chlamydiazyme test. J. Clin. Microbiol. 20,465-467.
70. Kalogeropoulos A., Frantzidou F., Klearchou N., Diza E., Kyriazopoulou V., Karagiannis V. Chlamydia trachomatis in infertile Greek women. A serologic and laparoscopic study. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 1993 Feb. 48(2):107-10.
71. Kazanowska W., Zdrodowska-Stefanow B., Kuczynka K. Use of direct and serologic methods to detect Chlamydia trachomatis infection in cervix uteri of women. Med. Dosw. Mikrobiol. 1993 45(3):349-55.
72. King A (1964). Recent Advances in Venereology p. 304-333. J and A. Churchill Ltd. London.
73. Κοντού-Καστελλάνου Χρ., Καραχάλιος Στ., Εμβλωμένος Π. Αναζήτηση IgG και IgA αντισωμάτων ειδικών για Chlamydia trachomatis με την έμμεση ενζυματική μέθοδο ανοσοϋπεροξειδάσης στον ορό γυναικών με τραχηλίτιδα. Πρακτικά



13^ο Εθνικό Συνέδριο Μικροβιολογίας. Θεσσαλονίκη 2&3 Απριλίου 1988.

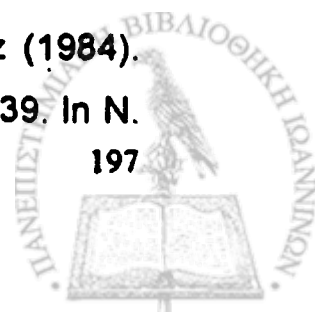
74. Kostoula A.G., C.C. Bobojianni, A.D. Dea, E.A. Deska, C. Papadopoulou, G. Antoniadis. Detection of Chlamydia trachomatis antigen using the direct Immunofluorescence technique: A four year syrvey in Northwestern Greece. Giornalle di Batteriologia, Virologia ed Immunologia. Vol. LXXXVI, Gennaio 1994-Dicembre 1994.
75. Κουρκουλή Ε., Φιλιπποπούλου Α., Φαναριώτης Δ., Καπαρός Γ., Σοφρώνης Εμ., Κουμεντάκου Ε. Η συχνότης του Chlamydia trachomatis με DNA-RNA υβριδισμό. Πρακτικά 15^ο Εθνικό Συνέδριο Μικροβιολογίας. Θεσσαλονίκη 18&19 Απριλίου 1992.
76. Krech T, Gerhard Fsadni D, Hoffman N and Miller SM (1985). Interference of Staphylococcus aureus in detection of Chlamydia trachomatis by monoclonal antibodies. Lancet I, 1161-1162.
77. Le Bar W, Herschman B, Jemal C and Pierzchala J (1989). Comparison of DNA probes, monoclonal antibody enzyme immunoassay and cell culture for detection of Chlamydia trachomatis. J. Clin. Microbiol. 27, 946-953.
78. Levett PN. Seroepidemiology of Chlamydia infection among a sexually-active population in Barbados. West. Indian. Med. J. 1994 Sep.43(3):80-3.
79. Levy JN (1979). Wheat germ agglutinin blockage of chlamydia attachment sites. Antagonism by N-acetyl-D-glucosamine. Infect. Immun. 25,946-953.
80. Linder K (1909). Uebertragunmsversuche von gonokokkenfreier Blennorrhoea neonatorum auf Affen. Wiener Klinische Wochenschrift 22, 1554-1659.



81. Ludwig M., Hausmann G., Hausmann W., Scriba M., Zimmermann O., Fischer D., Thiele D., Weidner W. Chlamydia trachomatis antibodies in serum and ejaculate of male patients without acute urethritis. *Ann. Urol. Paris.* 1996. 30(3):139-46.
82. Mahmoud E., Elshibly S., Mardh PA. Seroepidemiologic study of Chlamydia pneumoniae and other chlamydia species in a hyperendemic area for trachoma in the Sudan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1994 Oct. 51(4):489-94.
83. Mahony JB and Cherneski MA (1985). Effect of swab type and storage temperature on the isolation of Chlamydia trachomatis from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 22, 865-867.
84. Mardh PA, Moller BR, Ingerslev HJ, Nussler E, Westrom L and Woiner-Hanssen P (1981). Endometritis caused by Chlamydia trachomatis. *Br. J. Vener. Dis.* 57,191-195.
85. Mardh PA, Moller BR and Paavonen J. (1981). Chlamydia infection of the female genital tract with emphasis on pelvic inflammatory disease A review of Scandinavian studies. *Sex. Transm. Dis.* 8,140-155.
86. Mardh PA, Ripa KT, Collee S, Treharne JD and Darougar S (1978). Role of C. trachomatis in non-acute prostatitis. *Br. J. Vener. Dis.* 54, 330-334.
87. Mardh PA, Ripa KT, Svensson L and Westrom L (1977). C. trachomatis infection in patients with acute salpingitis. *New Engl. J. Med.* 296, 1377-1379.
88. Martin DH, Alexander ER, Eschenbach DA, Kuo CC, Chaing WT, Marclurg BJ, Adam J, Koutsk L and Holmes KK (1979). Prospective study of chlamydial infections in pregnancy. *J. Clin. Res.* 27,479.



89. McComb DE, Nichols RL, Semine DZ, Everard JR, Alpert S, Crockett VA, Rosner B, Zinner SH and McCormack WM (1979). Chlamydia trachomatis in women: antibody in cervical secretions as a possible indication of genital infection. J. Infect. Dis. 139, 628-633.
90. McComb DE and Puzniak CL (1974). Micro cell culture method for isolation of Chlamydia trachomatis. Appl. Microbiol. 28, 727-729.
91. McCormack W (1986). Chlamydial infections in men. In Oriel D, Ridgway G, Schachter J, Taylor-Robinson D, Ward M (ed). Chlamydia Infections pp.251-254. Cambridge University Press, Cambridge.
92. McCormack WM, Alpert S, McComb DE, Nichols RL, Semine Z and Zinner SH (1979). Fifteen month follow-up of women infected with C. trachomatis. New Engl. J. Med. 300,123-5.
93. Menke HE, Schuler JL and Stolz E (1979). Treatment of lymphogranuloma venereum with rifampicin. Br. J. Vener. Dis. 55,379.
94. Moller BR, Westrom L, Ahrons S, Ripa KT, Svensson L, von Meckleburg C, Henrickson H and Mardh PA (1979). C. trachomatis infections of the fallopian tubes. Histological findings in two patients. Br. J. Vener. Dis. 55,422-8.
95. Moss TR., Darougar S., Woodland RM., Nathan M., Dines RJ., Cathrine V. Antibodies to Chlamydia species in patients attending a genitourinary clinic and the impact of antibodies to C. pneumoniae and C. psittaci on the sensitivity and the specificity of C. trachomatis serology tests. Sex. Transm. Dis. 1993 Mar.-Apr. 20(2):61-5.
96. Mourder JW, Hatch TP, Kuo CC Schachter J and Storz (1984). Order II Chlamydiales Storz and Page 1971,334, p. 729-739. In N.



- R. Krieg and J.G. Holt Bergey's manual of systematic bacteriology. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
97. Muller-Schoop JW, Wang SP, Munzinger J, Schlapfer HV, Knoblauch M and Ammann RW (1978). *C. trachomatis* as a possible cause of peritonitis and perihepatitis in young women. *Br. Med. J.* 1,1022-1024.
 98. Munday PE, Johnson AP, Thomas BJ and Taylor-Robinson D (1980). A comparison of the sensitivity of immunofluorescence and Giemsa for staining cycloheximide-treated McCoy cells. *J. Clin. Pathol.* 33,177-9.
 99. Naib ZM (1970). Cytology of TRIC agent infection of the eye of newborn infants and their mother's genital tracts. *Acta Cytologica (Baltimore)* 14,390-5.
 100. Numazaki K., Chiba S., Umetsu M. Detection of IgM antibodies to *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, and *Chlamydia psittaci* from Japanese infants and children with pneumonia. *In Vivo.* 1992 Nov-Dec.6(6):601-4.
 101. Οικονόμου Μ; Θεμελή-Διγαλάκη Κ, Κούτσια-Καρουζου Χ. Αποτελέσματα ανίχνευσης των *Chlamydia spp* σε ασθενείς γενικού Νοσοκομείου. Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική . Τόμος 10, Τεύχος 6, σελ. 450-54 1995.
 102. Oriel JD, Powis PA, Reeve P, Miller A and Nichol CS (1974). *Chlamydia* infections of the cervix. *Br. J. Vener. Dis.* 50,11-16.
 103. Oriel JD and Ridgway GL (1982). Epidemiology of genital *Chlamydial* infection (discussion). In *Genital infection by Chlamydia trachomatis* pp. 105-109. Edward Arnold. London.

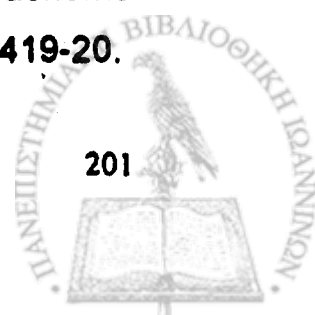


104. Oriel JD and Ridgway GL (1982). Morphology and nature of *C. trachomatis* in Genital infection by *Chlamydia trachomatis* pp. 7-8. Edward Arnold London.
105. Oriel JD and Ridgway GL (1983). Genital infection in men. *Br. Med. Bull.* 39,133-7.
106. Olliaro P., Regazzetti A., Marchetti AL., Lanzarini P. Spinillo A., Gorini G. Prevalence of chlamydia antibody in pregnancy. A matched-pair study. *Eur. J. Epidemiol.* 1994 Feb. 10(1) : 47-50.
107. Osser S., Persson K. Chlamydia antibodies in women who suffer miscarriage. *Br. J. Obstet. Gynaecology* 1996 Feb. 103(2):137-41.
108. Ouchi K., Kanamoto Y., Ushio M. Prevalence of antibodies to *Chlamydia pneumoniae* and other *Chlamydia* in Japan. *Kansenshogaku. Zasshi.* 1991 Jan. 65(1):19-25.
109. Paavonen J (1979). *C. trachomatis* induced urethritis in female partners of men with non-gonococcal urethritis. *Sex. Transm. Dis.* 6,69-71.
140. Paavonen J, Aine R, Teisala K, Heinonen RK, Punnonen R, Lehtinen M, Miettinen A and Gronroos P(1985). Chlamydial endometritis. *J. Clin. Pathol.* 38,726-32.
111. Paavonen J, Kousa M, Saikku P, Vartianen E, Kanerva L and Lassus A (1980). Treatment of non-gonococcal urethritis with trimethoprim sulphadiazine and with placebo. *Br. J. Vener. Dis.* 56,101-4.
112. Paavonen J, Vesterinen E, Meyer B, Saikku P, Suni J, Purola E and Saksela E (1979). Genital *C. trachomatis* infection in patients with cervical atypic. *Obstet. Gynecol.* 54,289-91.
113. Paavonen J, Saikku P, Vesterinen E and Lehtovirta P (1979). Infertility and cervical *C. trachomatis* infections. *Acta Obstet. Gynecol. Scan.* 58,301-8.

114. Paavonen J, Saikku P, Vesterinen E and Aho K (1979). *C. trachomatis* in acute salpingitis. *Br. J. Vener. Dis.* 55, 203-6.
115. Παπαπαναγιώτου Ι (1988). Χλαμύδιο του τραχώματος σελ. 330. *Ιατρική Μικροβιολογία και Ανοσολογία, Τόμος Β, Εκδόσεις Παρατηρητής Θεσσαλονίκη.*
116. Παπαχριστοδούλου-Πάντου Μ., Σαββάλα Μ., Κωνσταντοπούλου Σ., Λιόση Ε., Στυλιανέα-Φουντουλάκη Α. Πρακτικά 15^ο Εθνικό Συνέδριο Μικροβιολογίας. Θεσσαλονίκη 18&19 Απριλίου 1992.
117. Paperny DM, Hicks R and Rudoy R (1981). Chlamydial pelvic inflammatory disease in adolescents. *J. Adolesc. Health Care* 2,131-42.
118. Punnonen R, Terho P, Nikkanen V, Meurman O (1979). Chlamydial serology in infertile women by immunofluorescence. *Fertil. Steril.* 31,656-9.
119. Quinn TC, Goodell SE, Mkrtychian EC, Schuffler MD, Wang SP, Stamm WE and Holmes KK (1981). *Chlamydia trachomatis* proctitis. *New Engl. Med.* 305,195- 200.
120. Rees E, Tait IA, Hobson D, Byng RE and Johnson FWA (1977). Neonatal conjunctivitis caused by *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis*. *Br. J. Vener. Dis.* 53,173-9.
121. Rees E, Tait IA, Hobson D and Johnson RWA (1977). Chlamydia in relation to cervical and pelvic inflammatory disease. In Hobson D and Holmes KK (ed). *Non-gonococcal urethritis and related infections* pp. 67-76. American Society for Microbiology, Washington DC.
122. Rees E, Tait IA, Hobson D and Johnson RWA (1977). Perinatal chlamydia infection. In Hobson D and Holmes KK (ed). *Non-gonococcal urethritis and related infections* pp. 140-7. American Society for Microbiology, Washington DC.



123. Reeve P, Owen J and Oriel JD (1975). Laboratory procedures for the isolation of *C. trachomatis* from the human genital tract. *J. Clin. Pathol.* 28,910-4.
124. Richmond SJ (1976). Growth of *C. trachomatis* in cell culture. *Lancet* I, 865.
125. Richmond SJ and Caul EO (1975). Fluorescent antibody studies in chlamydial infection. *J. Clin. Microbiol.* 1,345-52.
126. Richmond SJ, Hilton AL and Clarke SKR (1972). Chlamydial infection. Role of *Chlamydia* Sub-group A in non-gonococcal ant postgonococcal urethritis. *Br. J. Vener Dis.* 48,437-44.
127. Richmond SJ, Milne JD, Hilton AL and Caul EO (1980). Antibodies to *C. trachomatis* in cervicovaginal secretions: relation to serum antibodies and current chlamydial infection. *Sex. Transm. Dis.* 7,11-15.
128. Richmond SJ and Sparling PF (1976). Genital chlamydial infections. *Am. J. Epidemiol.* 103,428-35.
129. Ridgway GL and Oriel JD (1977). Interrelationship of *C. trachomatis* and other pathogens in the female genital tract. *J. Clin. Pathol.* 30,933-6.
130. Ridgway GL and Oriel JD (1977). Treatment of neonatal inclusion blennorhea. *New Engl. J. Med.* 297,512.
131. Ripa KT and Mardh PA (1977). Cultivation of *C. trachomatis* in cycloheximide-treated McCoy cells. *J. Clin. Microbiol.* 6,328-31.
132. Ripa KT, Svensson L, Mardh PA and Westrom L (1978). *C. trachomatis* cervicitis in gynaecologic outpatients. *Obstet. Gynecol.* 52,698-701.
133. Rota T and Nichols R (1971). Infection of cell culture by Trachoma agent: Enhancement by DEAE Dextran. *J. Infect. Dis.* 124,419-20.



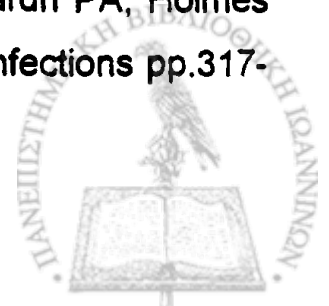
134. Rota T and Nichols R (1973). Chlamydia trachomatis in cell culture I Comparison of efficiencies of infection in several chemically defined media at various pH and temperature values and after exposure to diethylaminoethyl-dextran. Appl. Microbiol. 26,560-5.
135. Salari SH, Ward ME (1981). Polypeptide composition of Chlamydia trachomatis. J. Gen. Microbiol. 123,197-207.
136. Schachter J (1967). Isolation of Bedsoniae from human arthritis and abortion tissues. Am. J. Ophthalmol. 63,1082-6.
137. Schachter J (1978). Chlamydia infections. New Engl. J. Med. 298,428-435, 490-495, 540-549.
138. Schachter J and Atwood G (1975). Chlamydia pharyngitis; J. Am. Vener. Dis. Assoc. 2,12.
139. Schachter J, Cles L, Ray R and Hines PA (1979). Failure of serology in diagnosing chlamydia infections of the female genital tract. J. Clin. Microbiol. 10,647-9.
140. Schachter J and Dawson CR (1977). Comparative efficiency of various diagnostic methods for chlamydial infections. In Hobson D and Holmes KK (ed). Non-gonococcal urethritis and related infections pp. 337-41. American Society for Microbiology, Washington DC.
141. Schachter J. Chlamydia. In Manual Clinical Microbiology Fifth Edition. American Society for Microbiology. Washigton , DC.
142. Schachter J and Dawson CR (1978). Human chlamydial infections chapter 11, p.122 PSG Publishing Company Inc. ,Littleton, Massachusetts.
143. Schachter J, Grossman M, Holt J, Sweet R and Spector S (1979). Infection with C. trachomatis involvement of multiple anatomic sites in neonates. J. Infect. Dis. 139,232-4.



144. Schachter J, Grossman M, Holt J, Sweet R, Goodner E, Mills J (1979). Prospective study of chlamydial infection in neonates. *Lancet* II, 377-9.
145. Schachter J, Hanna L, Hill EC, Massad S, Sheppard CW, Conte JE, Cohen SN and Meyer KF (1975). Are chlamydia infections the most prevalent venereal disease. *J. Am. Med. Assoc.* 231,1252-5.
146. Schachter J, Hill EC, King EB, Coleman VR, Jones P and Meyer KF (1975). Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynaecol.* 123, 753-7.
147. Schachter J, Rose L, Dawson CR and Barnes M (1967). Comparison of procedures for laboratory diagnosis of oculogenital infections with inclusion conjunctivitis agents. *Am. J. Epidemiol.* 85,3,453-8.
148. Schachter J, Pike-van Ulsen J, Veeken ND, Michel MF and Stolz E (1979). Antibodies against Chlamydia of lymphogranuloma venereum type in Crohn's disease. *Lancet* I, 19-20.
149. Simmons PD, Forsey T, Thin RN, Treharne JD, Darougar S, Langlet F and Pandhi RK (1979). Antichlamydial antibodies in pelvic inflammatory disease. *Br. J. Vener. Dis.* 55,419-24.
150. Sompolinsky D and Richmond SJ (1974). Growth of *C. trachomatis* in McCoy cells treated with cytochalasin B. *Appl. Microbiol.* 28, 912-4.
151. Stamm WE, Guinan ME, Johnson C, Starcher T, Holmes KK, McCormack WM (1984). Effect of treatment regimens for *Neisseria gonorrhoeae* on simultaneous infection with *Chlamydia trachomatis*. *New Engl. J. Med.* 310,545-9.
152. Stephens RS, Kuo CC and Tam MR (1982). Sensitivity of immunofluorescence with monoclonal antibodies for detection of



- Chlamydia trachomatis inclusions in cell culture. *J. Clin. Microbiol.* 16,4-7.
153. Swartz SL, Kraus SJ, Herrmann KL, Stargel MD, Brown WJ and Allen SD (1978). Diagnosis and etiology of non-gonococcal urethritis. *J. Infect. Dis.* 138,445-54.
 154. Sweet RL, Mills J, Hadley KW, Blumenstock E, Schachter J, Robbie MO and Draper DL (1980). Use of laparoscopy to determine the microbiologic etiology of acute salpingitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 134,68-74.
 155. Takaba H., Nakano YY., Miyake K. Studies on detection of serum IgA and IgG antibodies specific for Chlamydia trachomatis in latent infections in males. *Nippon. Hinyokika. Gakkai. Zasshi.* 1991 Jul.82(7):1084-90.
 156. Tait IA, Rees E, Hobson D, Byng RE and Tweedie MCK (1980). Chlamydial infection of the cervix in contacts of men with non-gonococcal urethritis. *Br. J. Vener. Dis.* 56,37-45.
 157. Takourt B., Radouani F., Benchekroun A., Sekkat S., Bouqdir F., Guinet R., Ibrahimy S., Bensliname A. Seroprevalence of Chlamydia trachomatis infection in STD consultants in Morocco. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 1995 Mar. 88(4):194-8.
 158. Tam MR, Stamm WE, Handsfield HH, Stephens R, Kuo CC, Holmes KK, Ditzenberger K, Krieger M and Nowinski RC (1984). Culture-independent diagnosis of Chlamydia trachomatis using monoclonal antibodies. *New Engl. J. Med.* 310,1146-50.
 159. Tam MR, Stephens RS, Kuo CC, Holmes KK, Stamm WE and Nowinski RC (1982). Use of monoclonal antibodies to Chlamydia trachomatis as immunodiagnosis reagents. In Mardh PA, Holmes KK, Oriel JD, Piot P, Schachter J (ed) *Chlamydia infections* pp.317-320 Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.



160. T'ang FF, Chang HL, Huang YT and Wang KC (1957). Studies of the aetiology of trachoma with special reference to isolation of the virus in chick embryo. Clin. Med. J. 75,429-47.
161. Taylor-Robinson D, Thomas BJ, Dixey J, Orborn MF, Furr PM and Keat AC (1988). Evidence that Chlamydia trachomatis causes seronegative arthritis in women. Ann. Rheum. Dis. 47,295-9.
162. Thejls H., Rahm VA., Gnarpe J., Gnarpe H. Diagnostic efficacy of chlamydia antibodies in cervical secretions from pregnant women and adolescent girls. Genitourin. Med. 1995 Dec71(6):370-4.
163. Theunissen JJ., Kariwiga G., Ossewaarde JM., van-Rijsoort -Vos JH., Stolz E., van-der-Meijden Wl. Prevalence of Chlamydia trachomatis in women attending a family planning clinic in Papua New Guinea. Genitourin. Med. 1995 Oct. 71(5):295-8.
164. Thomas BJ, Evans RT, Hawkins DA, Taylor-Robinson D (1984). Sensitivity of detecting Chlamydia trachomatis elementary bodies in smears by use of a fluorescein labelled monoclonal antibody: Comparison with conventional chlamydial isolation. J. Clin. Pathol. 37,812-6.
165. Thomas BJ, Reeve P and Oriel JD (1976). Simplified serological test for antibodies to C. trachomatis. J. Clin. Microbiol. 4, 6-10.
166. Treharne JD, Darougar S and Jones BR (1977). Modification of the MIF test to provide a routine serodiagnostic test for chlamydial infection. J. Clin. Pathol. 30,510-7.
167. Treharne JD, Darougar S, Simmons PD and Thin RN (1978). Rapid diagnosis of chlamydial infection of the cervix. Br. J. Vener.Dis.54,403-8.
168. Treharne JD, Forsey T and Thomas BJ (1983). Chlamydial serology Br. Med. Bull.39,194-200



169. Treharne JD, Ripa KT, Mardh PA, Svensson L, Westrom L and Darougar S (1979). Antibodies to *C. trachomatis* in acute salpingitis. *Br. J. Vener. Dis.* 55,26-9.
170. Utsuno S. Significance of the detection of serum specific IgA and IgG antibodies to *Chlamydia trachomatis* in the epidemiological survey, diagnosis and therapeutic effect on chlamydial infection in women. *Nippon. Sanka. Fujinka. Gakkai. Zasshi.* 1991 Jul.43(7):763-70.
171. Van-den-Abeelee AM., Van-Renterghem L., Willems K., Plum J. Prevalence of antibodies to *Chlamydia pneumoniae* in a Belgian population. *J. Infect.* 1992 Jul. 25 Suppl 1: 87-90.
172. Videla C, Carballal G., Kekiklian G., Jouarez C., Gomez MM., Filippo E., Garcia A. *Chlamydia trachomatis* and tubal obstruction sterility. *Medicina B. Aires.* 1994,54(1):6-12.
173. Vyeda CT, Welborn P, Ellison-Birang N, Shunk K and Tsouse B (1984). Rapid diagnosis of chlamydial infections with the microtrak direct test. *J. Clin. Microbiol.* 20,948-50.
174. Wang SP (1971). A micro-immunofluorescence method. Study of antibody response to TRIC organisms in mice. In Nichol RL (ed). *Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents* pp.273-88. Excerpta Medica, Amsterdam.
175. Wang SP and Grayston JT (1974). Human serology in *C. trachomatis* infection with microimmunofluorescence. *J. Infect. Dis.* 130,388-97.
176. Wang SP and Grayston JT (1982). Microimmunofluorescence antibody response in *Chlamydia trachomatis* infection. In Mardh PA, Holmes KK, Oriel JD, Piot P, Schachter J(ed). *Chlamydia infection* pp.301-316, Elsevier Biomedical, Press Amsterdam.



177. Wang SP, Grayston JT, Alexander ER and Holmes KK (1975). Simplified micro-immunofluorescence test with Trachoma LGV(*C. trachomatis*) antigen for use as a screening test for antibody. *J.Clin. Microbiol.* 1,250-5.
178. Wang SP, Grayston JT, Kuo CC, Alexander ER and Holmes KK (1977). Serodiagnosis of *C. trachomatis* infection with the microimmunofluorescence test. In Hobson D and Holmes KK (ed). *Non-gonococcal urethritis and related infection* p.237 American Society for Microbiology, Washington DC.
179. Watson PG and Gairdner D (1968). TRIC agents as a cause of neonatal eye sepsis. *Br. Med. J.* 2, 527-528.
180. Wentworth BB, Bonin P, Holmes KK, Gutman L, Wiesner P and Alexander ER (1973). Isolation of viruses, bacteria and other organisms from venereal disease clinics and patients: methodology and problems associated with multiple isolations. *Health Labor. Sciences* 10,75-81.
181. Westrom L and Mardh PA (1983). Chlamydial Salpingitis. *Br. Med. Bull.* 29,145-50.
182. Williams T, Maniar AC, Brunham RC and Hammond GW (1985). Identification of *Chlamydia trachomatis* by direct immunofluorescence applied in specimens originating in remote areas. *J. Clin. Microbiol.* 22, 1053-4.
183. Witkin SS., Kligman I., Bongiovanni AM. Relationship between an asymptomatic male genital tract exposure to *Chlamydia trachomatis* and an autoimmune response to spermatozoa. *Hum-Reprod.* 1995 Nov. 10(11):2952-5.
184. Wolner-Hanssen P, Westrom L and Mardh PA (1980). Perihepatitis and chlamydial salpingitis. *Lancet* I,901-3.



185. Woodland RM, El Sheikh H, Darougar S and Squires S (1978). Sensitivity of immunoperoxidase and immunofluorescence staining in cell culture. *J. Clin. Pathol.* 31,1073-7.
186. Yong EC, Chinn JS, Caldwell HD and Kuo CC (1979). Reticulate bodies as single antigen in *C. trachomatis* with micro-immunofluorescence. *J. Clin. Microbiol.* 10,351-6.
187. Zhao J., Xu C., Wang N. Epidemiological study on the infections of *Mycoplasma* and *Chlamydia* in immoral persons and healthy controls in seven areas of China. *Chung. Hua. Liu. Hsing. Ping. Hsueh. Tsa. Chih.* 1994 Oct.15(5):263-6.
188. Zhao J. Study on the infections of *U. urealyticum*, *M. hominis*, and *C. trachomatis* in patients with venereal diseases and healthy controls in three areas of China. *Chung. Hua. Liu. Hsing. Ping. Hsueh. Tsa. Chih.* 1992 Aug.13(4):216-20.
189. Ζουρνατζή Β., Πανίδης Δ., Βαβίλης Δ., Κόκκινος Χ., Βλάσσης Γ. Αναζήτηση χλαμυδίων στο έκκριμα ουρήθρας και στο σπερματικό υγρό. Πρακτικά 13^ο Εθνικό Συνέδριο Μικροβιολογίας. Θεσσαλονίκη 2&3 Απριλίου 1988.
190. Ψύλλας Κ., Β. Μαλάμου-Μήτση, Ι. Ασπρούδης, Χρ. Παπαδοπούλου, Κ. Πασχίδης. Χλαμυδιακή επιπεφυκίτιδα. *Οφθαλμολογικά Χρονικά.* Έτος 23, Απρίλιος-Ιούνιος 1986, Αριθ: 2.

