

---

# **Диагностика хламидиозов**

**ИНФОРМАЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

**Нижний Новгород  
2008**

---

**Авторы:**

Обрядина А.П.—директор по ВНТ, д.б.н.,

Копнина Е.О.—начальник отдела продвижения продукции, д.м.н.

Голубева И.Ф.—продакт-менеджер

# Содержание

|       |   |    |
|-------|---|----|
| I.    | Введение  | 4  |
| II.   | История открытия хламидий   | 5  |
| III.  | Современная классификация хламидий  | 5  |
| IV.   | Биологические свойства хламидий   | 7  |
| V.    | Клиническая картина хламидиоза  | 13 |
| VI.   | Изменения иммунного статуса при хламидийной инфекции.                                       | 14 |
| VII.  | Методы диагностики хламидиозов  | 17 |
| VIII. | Тест-системы для диагностики хламидиозов производства<br>ООО «НПО «Диагностические системы» | 21 |
|       | Список литературы   | 27 |

## I. Введение

В последние десятилетия в патологии человека неуклонно возрастает роль антропонозных хламидиозов. Особенно большое значение приобретают урогенитальные хламидийные инфекции, которые относятся к числу наиболее распространенных заболеваний, передаваемых половым путем. Они поражают мужчин и женщин, все чаще регистрируются у новорожденных, оказывают негативное влияние на репродуктивное здоровье и часто являются причиной бесплодия.

Особенности биологии хламидий, проявляющиеся в способности к персистенции, приводят к частому формированию затяжных и хронических форм заболевания, развитию восходящей и диссеминированной инфекции.

По данным ВОЗ, ежегодно в мире урогенитальным хламидиозом заболевает около 89 млн. человек.

В России регистрация урогенитального хламидиоза началась с 1993 г. За период с 1993 по 1998 г. заболеваемость возросла более чем в 3 раза и составила 113,8 случаев на 100 тыс. населения в 1998 г. По мнению различных исследователей, в России ежегодно заболевают урогенитальным хламидиозом более 1,5 млн. человек, при этом в большинстве случаев этиологический диагноз не устанавливается. Неблагоприятная эпидемиологическая обстановка в настоящее время в нашей стране продолжает сохраняться, хотя

темпы распространения инфекции несколько снизились (в 2003 г. заболеваемость составила 103,2 на 100 тыс. населения).

Проблема хламидиозов имеет не только медицинское, но и социально-экономическое значение. Успешная организация борьбы с этими заболеваниями возможна лишь при условии их своевременного и полного выявления, а это, учитывая отсутствие патогномической симптоматики, представляет значительные трудности. В этой связи решающее значение в постановке диагноза приобретают методы лабораторной диагностики.

Важность диагностики хламидийной инфекции отражена в приказах Министерства здравоохранения РФ: № 286 от 7 декабря 1993 г. "О совершенствовании контроля за заболеваниями, передаваемыми половым путем (ЗППП)" и № 64 от 21 февраля 2000 г. "Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований".

На основании этих приказов была введена обязательная диагностика хламидиоза у больных с впервые установленным диагнозом ИППП, описаны методы лабораторной диагностики хламидиозов, определены показания к ее проведению и интерпретация полученных результатов с клинической точки зрения; предложен комплекс противоэпидемических, организационных и лечебных мероприятий.

## II. История открытия хламидий

Хламидии были открыты в 1907 году Л. Гальбершtedтером и С. Провачеком. В экспериментах на животных ими была доказана высокая контагиозность трахомы; а затем в клетках пораженной конъюнктивы обнаружены цитоплазматические включения с множеством мельчайших частиц—возбудителей трахомы. Ими же было предложено название "Chlamydozoa" (от греч. chlamys—мантя), которое указывает на наличие оболочки вокруг микробных частиц. Название закрепилось в микробиологии, хотя является неточным (оболочка вокруг включений является продуктом клетки хозяина, а не хламидий).

Вскоре такие же включения (тельца Гальбершtedтера-Провачека) были обнаружены в конъюнктивных клетках новорожденных с негонококковой бленнореей; в цервикальном эпителии их матерей, в эпителии уретры мужчин с негонорейным уретритом. Стало очевидным, что трахома, конъюнктивит новорожденных, поражение генитального тракта взрослых вызываются сходными инфекционными агентами.

В 1930 г. С. Бедсоном был открыт возбудитель пситтакоза и описан цикл его развития. Сходство репликативного механизма и морфологии включений возбудителей пситтакоза и группы трахомы, а также возбудителей венерической лимфогранулемы и мышинной пневмонии позволили объединить их в родовой таксон, который с 1945 г. стали называть Chlamydia.

В 60-х гг. были разработаны методы выделения хламидий и культивирования их в культуре клеток куриных эмбрионов и на перевиваемых линиях клеток млекопитающих.

В настоящее время активно исследуется роль хламидий не только в возникновении урогенитальных заболеваний, пневмоний, инфекций верхнего дыхательного тракта, но и в развитии астмы, рака легкого, саркоидоза, ИБС, артритов.

## III. Современная классификация хламидий

В 1980 г. во впервые опубликованном перечне названий бактерий хламидии были представлены двумя видами—Chlamydia trachomatis и Chlamydia psittaci

Таблица 1.

| Порядок   | Chlamydiales          |                          |                                |                         |                            |
|-----------|-----------------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Семейство | 1.Chlamydiaceae       |                          | 2.Parachlamydiaceae            | 3. Simkaniaceae         | 4. Waddliaceae             |
| Род       | Chlamydia             | Chlamydoiphila           | Parachlamydia<br>Acanthamoebae | Simakania<br>negevensis | Waddliaceae<br>Chondropila |
| Вид       | Chlamydia trachomatis | Chlamydoiphila Pecorum   |                                |                         |                            |
|           | Chlamydia suis        | Chlamydoiphila pneumonia |                                |                         |                            |
|           | Chlamydia muridarum   | Chlamidophila psittaci   |                                |                         |                            |
|           |                       | Chlamidophila abortus    |                                |                         |                            |
|           |                       | Chlamidophila caviae     |                                |                         |                            |
|           |                       | Chlamidophila felis      |                                |                         |                            |

**Хламидии—мелкие грамотрицательные кокковидные бактерии, 0,25-1 мкм**

taci. В 1989 году ранее идентифицированный TWAR штамм *C. psittaci* на основании изучения структуры элементарных частиц, серологии и анализа ДНК был выделен в третий вид, *Chlamydia pneumoniae*. Другая группа штаммов, первоначально классифицированная как *C. psittaci*, после анализа ДНК и серологических исследований была впоследствии определена как *Chlamydia pecorum*.

Согласно современной классификации все хламидии сгруппированы в порядок Chlamydiales, в котором выделяется четыре семейства—Chlamydiaceae, Parachlamydiaceae, Simkaniaceae, Waddliaceae (Таблица 1).

В составе семейства Chlamydiaceae выделяется два рода—*Chlamydia* и *Chlamydomphila*, которые различаются между собой по фенотипическим признакам.

Род *Chlamydia* включает три вида: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia muridarum* и *Chlamydia suis*. *Chlamydia trachomatis* является исключительно паразитом человека, вызывает трахому, урогенитальные заболевания, некоторые формы артрита, конъюнктивит и пневмонию новорожденных.

*Chlamydia trachomatis* имеет два биовара: *trachoma* (14 сероваров) и LGV (4 серовара).

Вид *Chlamydia muridarum*, ранее рассматриваемый как третий биовар *Chlamydia trachomatis*, является возбудителем заболеваний грызунов семейства Muridae.

*Chlamydia suis* впервые была выделена у свиньи (*Suis scrofa*). Различные штаммы *Chlamydia suis* способны вызывать конъюнктивит, энтерит и пневмонию у животных.

Род *Chlamydomphila* включает в себя

следующие виды—*Chlamydomphila psittaci*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Chlamydomphila pecorum*, *Chlamydomphila abortus*, *Chlamydomphila caviae* и *Chlamydomphila felis*.

*Chlamydomphila pecorum*- возбудитель заболеваний животных.

*Chlamydomphila pneumoniae*- возбудитель респираторных инфекций у животных и человека. Этот вид имеет три биовара—TWAR, коала (*Koala*) и конский (*Equine*). Независимо от того, где паразитируют штаммы *Chlamydomphila pneumoniae*, у животных или у человека, все они имеют сходные генетические и антигенные характеристики. Штаммы TWAR являются возбудителями заболеваний респираторного тракта у человека. Они способны вызывать преимущественно острые или хронические бронхиты и пневмонии. В последнее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о возможной взаимосвязи *Chlamydomphila pneumoniae* с развитием атеросклероза и бронхиальной астмы.

*Chlamydomphila psittaci* включает штаммы, которые способны вызывать заболевания только у птиц. Все эти штаммы могут передаваться человеку и вызывать пситтакоз. Вид *Chlamydomphila psittaci* включает 8 сероваров.

*Chlamydomphila abortus* вызывают заболевания у животных. В литературе описаны случаи спорадических абортов у женщин, работавших с овцами, вызванные *Chlamydomphila abortus*—гестационный пситтакоз.

*Chlamydomphila felis* вызывает риниты и конъюнктивиты у домашних кошек. Отмечены зоонозные инфекции, вызванные этим микроорганизмом у людей, которые проявлялись в виде конъюнктивита.

*Chlamydomydia caviae* впервые была выделена из конъюнктивы морской свинки. В лабораторных условиях было показано, что этот микроорганизм может вызывать у морских свинок инфекции половых органов, сходные по своим проявлениям с аналогичными заболеваниями у человека.

Семейство *Parachlamydiaceae* включает микроорганизмы, которые являются паразитами амёб. В состав семейства входит один род, единственным представителем которого является *Parachlamydia acanthamoebae*. Эти микроорганизмы не распознаются моноклональными антителами, специфичными для липополисахаридного антигенного комплекса семейства *Chlamydiaceae*. Различия в нуклеотидной последовательности рибосомных генов *Parachlamydiaceae* и *Chlamydiaceae* в целом составляет 10—20%.

В настоящее время семейство *Simkaniaceae* включает один род *Simkania*, который представлен единственным видом и штаммом—*Simkania negevensis*. Естественный хозяин симканий до сих пор не известен. Однако данные серологических методов исследования и ПЦР-анализа свидетельствуют, что этот микроорганизм широко распространён у людей. Штамм *Simkania negevensis* не распознаётся моноклональными антителами, специфичными для липополисахаридного антигенного комплекса семейства *Chlamydiaceae*.

Единственным представителем семейства *Waddliaceae* является вид *Waddlia chondrophila* (штамм WSU 86-1044). Нуклеотидная последовательность 16S рДНК штамма WSU 86-1044 проявляет 84,7-85,3% гомологии с соответствующими представителями ге-

нов различных хламидийных штаммов. Это, в свою очередь, позволило отнести этот штамм к отдельному роду и семейству.

Исходя из характеристики видов хламидий ясно, что они способны поражать как животных, так и человека, и часто зоонозные инфекции передаются человеку. Разные виды обладают различным по длительности циклом развития и различной чувствительностью к традиционным для лечения хламидийных инфекций препаратам. Поэтому для адекватной и успешной терапии большое значение имеет правильная диагностика.

#### IV. Биологические свойства хламидий

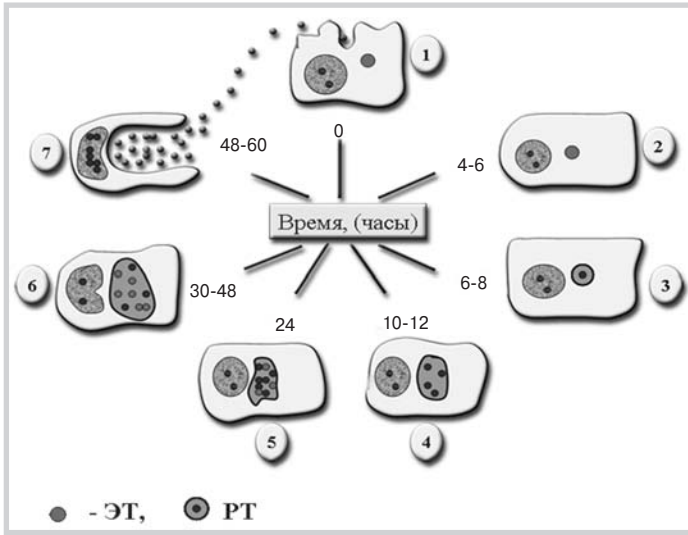
##### 1. Цикл развития хламидий

Хламидии—мелкие грамотрицательные бактерии размером 250-1500 нм (0,25-1 мкм). Хламидии имеют все основные признаки бактерий:

- содержат два типа нуклеиновых кислот—ДНК и РНК;
- рибосомы;
- муравовую кислоту (компонент клеточной стенки).

Хламидии размножаются бинарным делением и чувствительны к некоторым антибиотикам. По современной классификации хламидии помещены в одну группу с риккетсиями, с которыми их объединяет, помимо размера, внутриклеточный паразитизм. В самостоятельный порядок хламидии были выделены из-за уникального, отличающегося от всех прочих бактерий, внутриклеточного цикла развития.

Хламидии существуют в двух формах, различающихся по морфологическим и



**Рис. 1.** Схема цикла развития хламидий

биологическим свойствам: в форме элементарного и ретикулярного телец. (Рис.1).

1. Элементарные тельца (ЭТ)—внеклеточная, споровая форма хламидии. Имеют вид сферы диаметром 0,15—2 мкм. Эта форма служит носителем видовых признаков, имеет прочную клеточную стенку благодаря дисульфидным связям, поэтому ЭТ метаболически мало активны и почти не чувствительны к антибиотикам. ЭТ высокоинфекционны, способны проникать в чувствительную клетку, где впоследствии происходит уникальный цикл развития хламидий.

Первыми, кто предположил, что элементарные тельца и есть возбудители болезни, были известные ученые Провачек и Гальбершtedтер, в их честь ассоциации элементарных телец внутри клетки называют тельцами Гальбершtedтера-Провачека.

2. Ретикулярные тельца (РТ)—крупная внутриклеточная вегетативная форма существования хламидии, величиной около 1 мкм, округлой формы. РТ имеют структуру типичных грамотрицательных бактерий, обладают высокой метаболической активностью, синтезируют нуклеиновые кислоты и белки, обладают способностью к репродукции и обеспечивают размножение микроорганизма. РТ—высоколабильные формы, неспособные выжить вне инфицированной клетки, не обладают инфекционными свойствами, чувствительны к антибиотикам.

Первый этап инфекционного процесса—прикрепление ЭТ к поверхности (рецепторам) чувствительных клеток, которыми для хламидий являются: цилиндрический эпителий слизистых оболочек, эпителиальные клетки различных органов, клетки ретикулоэндотелия, лейкоциты, моноциты и макро-

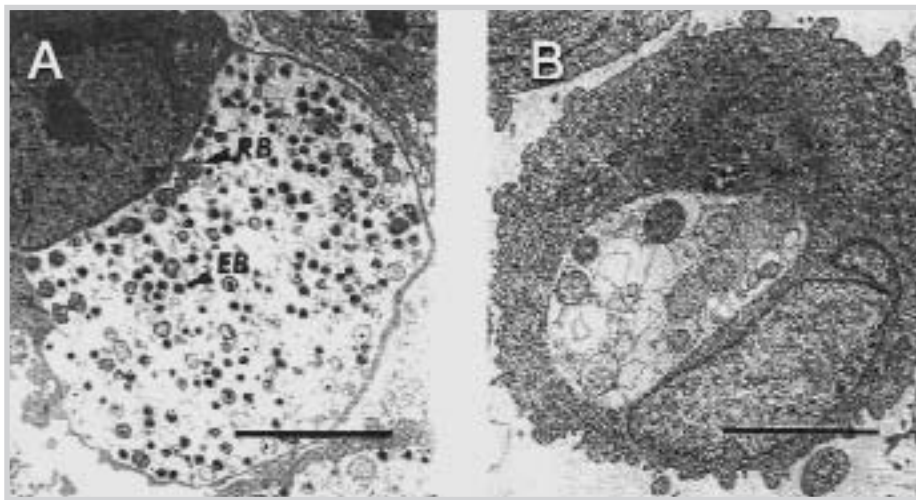


фаги. Внедрение хламидий происходит путем эндоцитоза. Инвагинация рецептора с адсорбированным ЭТ происходит в цитоплазму с образованием фагоцитарной вакуоли. Эта фаза занимает 7—10 часов. Через 8—10 часов после заражения клеток можно наблюдать подавление синтеза ДНК и РНК в инфицированных клетках. После этого уже в клетке в течение 6—8 часов происходит реорганизация ЭТ в вегетативную форму—ретикулярное тельце, способное к росту и делению. Именно на этой фазе эффективно курсовое применение антибактериальных препаратов, поскольку ЭТ к ним не чувствительно.

Размножение хламидий ведет к формированию включений, известных под названием телец Провачека. В течение 18-24 часов развития они локализованы в цитоплазматическом пузырьке,

образованном из мембраны клетки хозяина. Во включении может содержаться от 100 до 500 хламидий. Остановка процесса на этой стадии ведет к персистенции хламидийной инфекции. Далее начинается процесс созревания ретикулярных телец через переходные (промежуточные) тельца в течение 36-42 часов развития в ЭТ следующего поколения. Полный цикл репродукции хламидий равен 48—72 часам и завершается разрушением пораженной клетки, в случае возникновения для хламидий неблагоприятных метаболических условий этот процесс может затягиваться на более длительный период (Рис.2).

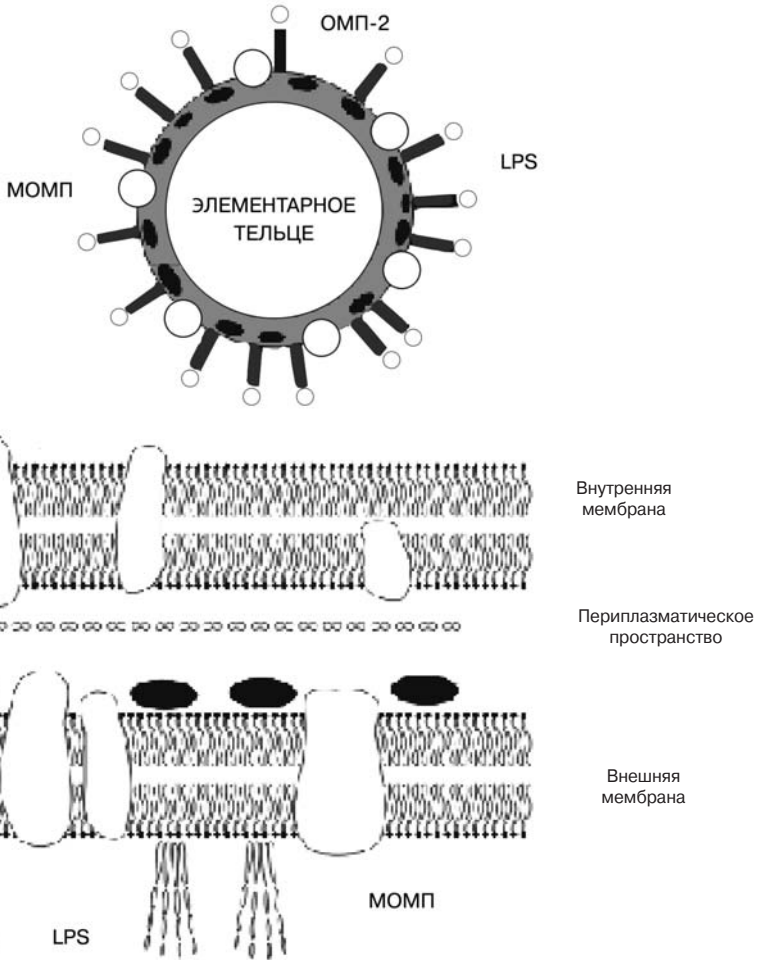
Хламидии могут высвобождаться из инфицированной клетки через узкий ободок цитоплазмы. При этом клетка может сохранять жизнеспособность—этим можно объяснить бессимптомность течения хламидийной инфекции.



**Рис.2.** На фотографии, полученной при электронной микроскопии, клетки, инфицированные *Chlamydia trachomatis*.

А) Типичное включение, содержащее элементарные и ретикулярные тельца.

В) Патоморфологическая модель хламидийной персистенции. В результате культивирования инфицированных клеток во включениях содержатся крупные формы хламидий.



**Рис.3.** Структура клеточной стенки *Chlamydia trachomatis*

Вновь образовавшиеся ЭТ после выхода из пораженной клетки могут инфицировать новые здоровые клетки, что приводит к прогрессированию инфекционного процесса. Длительность инкубационного процесса (от момента заражения до первых клинических проявлений) зависит от состояния организма, инфицирующей дозы, локуса поражения и может составлять в среднем от 14 до 35 дней.

Использование методов ультраструктурного анализа позволило доказать возможность персистенции хламидий в эпителиальных клетках и фибробластах инфицированных слизистых мембран. Хламидии поглощаются периферическими моноцитами и распространяются в организме, моноциты оседают в тканях и превращаются в тканевые макрофаги (в суставах, в сосудах, в области сердца). Тканевые

Таблица 2  
Антигены хламидий

| Антиген   | Химический состав | Примечание  |
|---|-------------------|---|
| Родоспецифический (общий для всех видов хламидий: <i>Chlamydia psittaci</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> )    | Липосахарид       | Три различных антигенных домена   |
| Видоспецифический (различен для всех видов хламидий: <i>Chlamydia psittaci</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> ) | Белки             | Более 18 различных компонентов 155 кДа у <i>Chlamydia trachomatis</i> , эпитопы в белке 40 кДа, белок теплового шока hsp-60 |
| Типоспецифический (различен для сероваров <i>Chlamydia trachomatis</i> )  | Белки             | Эпитопы в 40 кДа протеине (MOMP), протеине 30 кДа у серотипов А и В   |

макрофаги могут сохранять жизнеспособность в течение нескольких месяцев, являясь при этом мощным антигенным стимулятором, приводя к образованию фиброзных гранулем в здоровой ткани. Хламидии или их фрагменты могут высвобождаться из клеток и вызывать образование специфических антител, независимо от того, определяется ли хламидийный антиген в месте проникновения инфекции.

## 2. Строение и антигенные свойства хламидий

Структура клеточной стенки хламидий соответствует общему принципу построения грамотрицательных бактерий. Она состоит из внутренней цитоплазматической и наружной мембран, каждая из которых двойная.

Антигенные свойства хламидий определяются наружной мембраной, кото-

рая представлена липополисахаридами. В нее интегрированы так называемые белки наружной мембраны (Outer membrane proteins—OMP) (Рис.3). На основной белок наружной мембраны—Major Outer Membrane Protein (MOMP) приходится 60% общего количества белка. Остальная антигенная структура представлена белками наружной мембраны второго типа—OMP 2. Все хламидии имеют общий групповой, родоспецифичный антиген (липополисахаридный комплекс, реактивной половиной которого является 2-кето-3-дезоксиктановая кислота).

Белки MOMP и OMP 2 содержат видо- и типоспецифические эпитопы. Однако в них имеются также области с высоким сходством среди видов (родоспецифические эпитопы). Основным белком клеточной мембраны и богатые цистеином другие белки связаны дисульфидными связями (Таблица 2).

Обнаружено пять генов дисульфидсвязанных изомераз, возможно, играющих роль в реструктуризации цистеинбогатых белков при дифференциации ЭТ в РТ. У *Chlamydia trachomatis* выявлено 9 генов, кодирующих поверхностные мембранные белки, у *Chlamydia pneumoniae*—18.

В 1998 году R.S. Stephens и соавторы сообщили о секвенировании генома *Chlamydia trachomatis*. Геном хламидии имеет небольшой размер и составляет не более 22% генома кишечной палочки штамма K12.

Анализ генома позволил выделить 895 генов, которые кодируют различные белки. Сходство с ранее исследованными белками других бактерий помогло определить функциональное назначение 604 (68%) кодируемых бел-

ков. Так, 35 (4%) белков были схожи с белками, имеющимися у других бактерий. В остальных 255 (28%) белках последовательности были непохожи на те, которые были изучены ранее. Их анализ показал, что 256 (29%) хламидийных белков в пределах одного генома группируются в 58 семейств. Сходное группирование белков имеет место у бактерий, имеющих геном небольшого размера, таких как микоплазмы и *Haemophilus influenzae*.

Длительное время считалось, что хламидии имеют характерный дефект ряда ферментных систем и не способны самостоятельно окислять глутамин и пируват, а также осуществлять фосфорилирование и эффективное окисление глюкозы. Предполагалось также, что хламидии являются облигатными внутриклеточными энергетическими паразитами, использующими метаболическую энергию эукариотической клетки с помощью АТФ и других макроэргических соединений. В настоящее время известно, что хламидии способны синтезировать АТФ, хотя и в незначительных количествах, путем гликолиза и расщепления гликогена.

Хламидии в процессе приспособления к внутриклеточному паразитизму выработали уникальные структуры и биосинтетические механизмы, не имеющие аналогов у других бактерий. У них не удалось обнаружить высококонсервативный ген *FtsZ*, который ответственен за образование клеточной перегородки во время деления клетки и абсолютно необходим для клеточного деления всех прокариот. У хламидий также отсутствует пептидогликан — жесткий полимер клеточной стенки, существующий как у грамположительных,

так и у грамотрицательных бактерий, однако имеется полипептид, который частично берет на себя функции пептидогликана. Полипептид вместе с ковалентно связанными с ним липопротеинами, а также липополисахаридами и белками внешней мембраны обеспечивает достаточную механическую прочность оболочки хламидий. Наличие в хламидийной клетке ферментов, участвующих в синтезе пептидного фрагмента пептидогликана, обуславливает чувствительность хламидий к пенициллину и другим бета-лактамам антибиотикам.

Еще в 80-х годах методом сканирующей электронной микроскопии на поверхности хламидий были выявлены куполообразные структуры, пронизанные микрофиламентами. Микрофиламенты выходят из центра, достигают мембраны включений и пронизывают ее. Функцию этой структуры связывают с транспортом питательных веществ от эукариотической клетки к паразиту. Обнаружение в геноме хламидий генов, кодирующих аппарат для 3-го типа секреции, который обуславливает вирулентность грамотрицательных бактерий, позволил предположить, что это образование осуществляет передачу сигнала от паразита к эукариотической клетке. Функциональное назначение субстрата, секретируемого аппаратом 3-го типа секреции, неизвестно. Предполагается, что в процесс взаимодействия хламидий с клеткой хозяина вовлечены не только поверхностные структуры хламидий, но и мембраны включений, поскольку в ассоциации с ними обнаружены хламидийные белки, функциональное назначение которых еще полностью не раскрыто.

## V. Клиническая картина хламидиоза

Входными воротами для этой инфекции является слизистая оболочка мочеполовых органов, прямой кишки, конъюнктивы глаз. Размножение и накопление хламидий происходит в эпителиальных клетках в месте внедрения. Под влиянием возбудителя и его токсинов развиваются местные воспалительные изменения, затем процесс распространяется на все новые и новые участки, хламидии и их токсины могут проникать в кровь, распространяясь по другим органам.

Хламидиозы, вызываемые *Chlamydia trachomatis*, представляют собой группу заболеваний, различающихся по путям инфицирования, эпидемиологии и

клинической симптоматике. В эту группу входят две самостоятельные нозологические формы (трахома, венерическая лимфогранулема), воспалительные заболевания мочеполовых органов у новорожденных, поражения глаз, перигепатит, синдром Рейтера, заболевания ЛОР-органов.

На начальных этапах хламидийная инфекция может иметь мало- или бессимптомное течение, что обусловлено своеобразием биологии *Chlamydia trachomatis*—уникальностью их жизненного цикла и взаимодействия с клетками макроорганизма. Такой вариант отмечается у каждого 4 (6) из 10 больных. В прогностическом отношении это является не менее неблагоприятным, чем ее манифестные формы.

Манифестные формы заболевания

Таблица 3

**Заболевания, вызванные *Chlamydia trachomatis*, и их осложнения**

| Заболевания и симптомы хламидиоза  |  |                                  |
|--|--|----------------------------------|
| Мужчины  | Женщины  | Дети                             |
| Уретрит  | Уретрит  | Конъюнктивит новорожденных       |
| Эпидидимит   | Эндометрит   | Пневмония                        |
| Конъюнктивит   | Сальпингит   |                                  |
| Венерическая лимфогранулема  | Периаппендицит   |                                  |
|  | Конъюнктивит   |                                  |
| Осложнения хламидиоза. Болезнь Рейтера (синдром Рейтера)   |  |                                  |
| Нарушение фертильности   | Бесплодие  | Обструктивные заболевания легких |
| Постинфекционный (реактивный) артрит—синдром Рейтера. Поражение гениталий и желудочно-кишечного тракта с отеком и стенозом (после венерической лимфогранулемы) | Нарушение фертильности   |                                  |
|  | Эктоскопическая беременность   |                                  |
|  | Хронические абдоминальные боли   |                                  |
|  | Постинфекционный (реактивный) артрит—синдром Рейтера. Поражение гениталий и желудочно-кишечного тракта с отеком и стенозом (после венерической лимфогранулемы) |                                  |

регистрируются только в том случае, когда имеет место ассоциированная инфекция, при этом именно ассоциант обуславливает развитие клинической картины инфекционного процесса на фоне угнетения иммунного ответа со стороны макроорганизма. Поскольку с момента инфицирования заболевание протекает без субъективных клинических проявлений, то пациент обращается к врачу чаще всего на стадии осложнений (Таблица 3).

### VI. Изменения иммунного статуса при хламидийной инфекции.

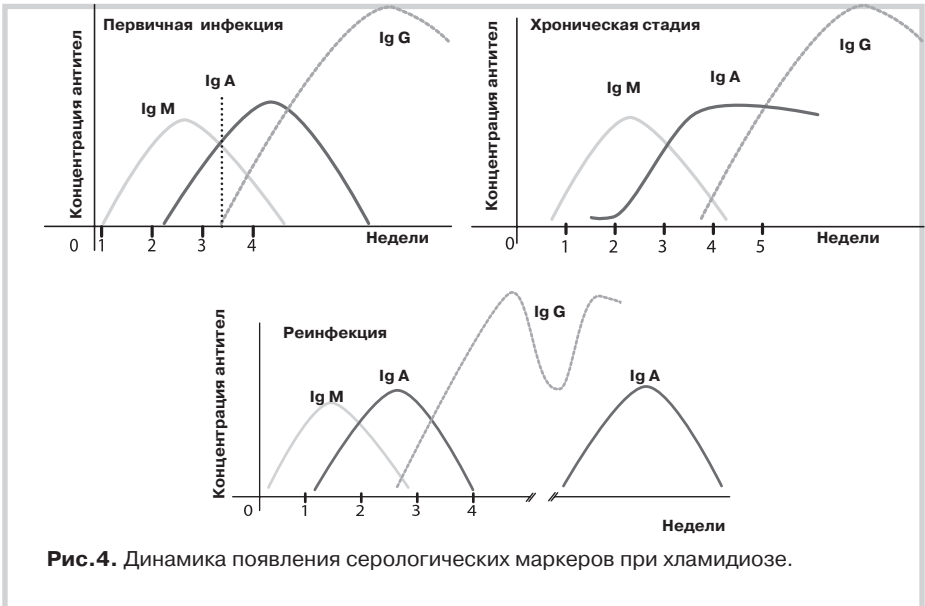
При хламидийной инфекции происходят изменения как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета, развиваются следующие иммунологические реакции:

- локальное образование секреторного иммуноглобулина А;
- цитотоксическая защита посредством Т-лимфоцитов;

— образование антител классов IgM, IgA, IgG к хламидийному липополисахаридному антигену.

Образование антител к антигенам хламидий происходит на стадии элементарных телец, когда хламидийные клетки находятся в межклеточном пространстве и доступны для контакта с иммунокомпетентными клетками организма. Хламидии поглощаются периферическими моноцитами, распространяются и оседают в различных органах и тканях организма человека, сохраняясь в течение длительного периода времени. Как правило, это вызывает развитие восходящей персистирующей формы инфекции, которая обуславливает хроническое течение болезни. При этом время от времени происходит высвобождение антигенов хламидий из клеток, что приводит к индуцированию гуморального ответа.

Сами хламидии—слабые иммуногены, поэтому титры антител при хлами-



диозах относительно невысоки.

Первыми при иммунологическом ответе макроорганизма, инфицированного хламидиями, появляются IgM; они являются ранним маркером инфекции. IgM определяются уже через 5 дней после начала заболевания. Наличие специфических IgM свидетельствует о развитии острой фазы хламидийной инфекции. Они нарабатываются против специфического хламидийного липополисахарида как наиболее сильного антигенного раздражителя иммунной системы, обладающего родоспецифическими функциями и стимулирующего антителогенез уже на ранних стадиях инфицирования организма человека.

Пик IgM приходится на 1—2 неделю заболевания. Затем происходит снижение титра антител. Как правило, IgM полностью исчезают через 2—3 месяца независимо от проведенного лечения. Эти антитела присутствуют при острой фазе заболевания и не определяются при реинфекции. Поэтому создание тест-систем для выявления противохламидийных IgM признано целесообразным.

Снижение уровня IgM сопровождается нарастанием концентрации IgA. В течение короткого периода в сыворотке больного одновременно могут быть IgM и IgA. Определение специфических IgA более информативно в качестве маркера активной стадии хламидийной инфекции.

IgA существуют в сывороточной и секреторной формах. Первая защитная реакция организма на инфекцию состоит в индукции секреторного IgA в местах проникновения инфекции. В сыворотке антитела появляются через 10-14 дней после начала заболевания,

Таблица 4

**Определение стадии заболевания на основании выявления классов иммуноглобулинов**

| Стадия заболевания               | Классы иммуноглобулинов |
|----------------------------------|-------------------------|
| Острая                           | IgG, IgA, IgM           |
| Хроническая                      | IgA*, IgG               |
| Реактивация или реинфекция       | IgA*, IgM               |
| Состояние после реконвалесценции | IgG                     |

\*при недостоверном определении титра IgA подтверждение осуществляется при помощи определения IgM

иногда параллельно появлению IgG, что и свидетельствует о прогрессировании заболевания. Уровень IgA обычно снижается к 2-4 месяцу в результате успешного лечения. При реинфекциях их уровень вновь возрастает. Если уровень IgA не падает после проведенного лечения, то это указывает на неэффективность лечения и формирование хронической формы инфекции (Рис. 4).

Таким образом, в диагностике хламидийной инфекции очень важно определение IgA, так как они являются маркером как острой формы, так и манифестации при хронической форме инфекции. Наличие IgA свидетельствует об активации хламидийной инфекции. Информативно определение IgA и при мониторинге эффективности лечения, так как эти антитела короткоживущие (период полураспада—5—8 дней). В это же время или с небольшой задержкой могут быть определены иммуноглобулины класса G (Табл. 4).

Диагностически значимый уровень IgG в крови начинает выявляться примерно с 14 дня от начала заболевания

Таблица 5

Уровень специфических иммуноглобулинов различных классов на различных стадиях хламидийной инфекции

| Стадия заболевания                                  | Диапазон титров IgG | Диапазон титров IgA | Диапазон титров IgM |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|
| Первичная/ острая (определяются IgM)                | >100-6400           | >50-1600            | >50-3200            |
| Хроническая (определяются IgG, IgA)                 | >100-1600           | <50                 | >50-200             |
| Реактивация/ реинфекция (определяются IgG, IgA)     | >100-51200          | >50-400             | <50                 |
| Состояние после реконвалесценции (определяются IgG) | >100-400            | <50                 | <50                 |

и прогрессивно растет на протяжении 3—4 недель.

Аффинитет IgG к антигенным детерминантам хламидий повышается по мере развития иммунного ответа. Наличие IgG в сыворотке крови отражает общую картину позитивного иммунного ответа в случаях текущей, хронической или перенесенной инфекции. В последнем случае IgG могут определяться на низком уровне в течение многих лет. В случае если происходит реинфекция или реактивация инфекции, наблюдается заметное увеличение уровня IgG (бустер-эффект), который у нелеченых пациентов сохраняется на неизменном уровне. Высокие уровни антихламидийных IgG диагностически важны при хронических или системных инфекциях: сальпингиты, механическая инфертильность, перигепатиты, эпидимиты, синдром Рейтера и пневмонии.

Хроническое течение хламидийной инфекции характеризуется наличием в крови пациентов IgA и IgG, уровни которых меняются незначительно в про-

тивоположность острой инфекции. У пациентов с персистентной формой хламидийной инфекции может отмечаться низкий титр антихламидийного IgA при стабильно положительном значении специфического IgG. Длительно циркулирующие в низком титре IgG при отрицательных значениях IgM и IgA указывают на давно перенесенную хламидийную инфекцию.

Таким образом, серологические исследования (выявление специфических IgA и IgG) дают возможность определения стадии инфекционного процесса (Таблица 5).

Для адекватной интерпретации результатов серодиагностики хламидиоза следует учитывать такое понятие, как "пограничные титры". Это наименьшие возможные разведения, в которых тест-системы определяют антитела. "Пограничные титры" для IgM—1:50, IgA—1:50, IgG—1:100. Так называемые "диагностические титры" могут подтверждать клинический диагноз, стадию процесса, необходимость назначения антибактериального лечения.



При лечении осложнений, вызванных восходящей хламидийной инфекцией, определение IgA и IgG может обеспечивать контроль излеченности пациентов. Выявление 2-3-кратного снижения уровня А и/или G антител при исследовании в парных сыворотках может свидетельствовать об успешно проведенной терапии. Использование в серодиагностике парных сывороток, полученных на разных стадиях инфекции, может быть полезным, так как 2-4-кратная сероконверсия (увеличение титра антител во второй сыворотке по сравнению с первоначальной) свидетельствует об активной инфекции.

## VII. Методы диагностики хламидиозов

В настоящее время диагностика хламидиозов основана на четырех группах методов:

- выделение возбудителя в культуре клеток ("золотой стандарт");
- обнаружение хламидийных антигенов при помощи реакции с ФИТЦ-мечеными моноклональными антителами (ПИФ—метод прямой иммунофлуоресценции);
- обнаружение ДНК возбудителя (полимеразная или лигазная цепная реакция);
- обнаружение антител к хламидиям (ИФА, РНИФ, РНГА).

Диагностическая ценность каждой из групп методов различна и, конечно, должна учитываться в свете современных представлений о генетической гетерогенности хламидий.

Одним из лучших, но в то же время наиболее трудоемким, является метод диагностики хламидий путем изоляции

возбудителя на культуре клеток, обработанных различными метаболитами. Чувствительность культурального метода по сравнению с ПЦР составляет 70—80%, но в то же время он превосходит молекулярно-биологические методы диагностики по специфичности. Используется в основном для научных целей, а также для сравнительной оценки специфичности и чувствительности других методов диагностики хламидиоза.

Метод прямой иммунофлуоресценции (ПИФ) предусматривает прямое выявление антигенов хламидий. При люминесцентной микроскопии включения хламидий определяются в виде зеленой или желто-зеленой флуоресценции включений на коричнево-оранжевом фоне цитоплазмы клеток. Диагностическая информативность ПИФ связана с тем, что с ее помощью выявляются не только корпускулярные, но и растворимые антигены хламидий. ПИФ-метод является важнейшим скрининговым методом диагностики урогенитального хламидиоза.

Ряд зарубежных фирм выпускает диагностические наборы, содержащие моноклональные антитела для ПИФ. Реагенты фирм Syva, Difco, Kallstad представляют собой меченные ФИТЦ моноклональные антитела к основному белку наружной мембраны хламидий, а реагенты других фирм— моноклональные антитела к родоспецифическому липополисахаридному антигену (ЛПС). В России ЗАО "НИАРМЕДИК плюс" при НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН выпускает моноклональные антитела к ЛПС хламидий—набор "Хламоноскан".

В целом, метод ПИФ отвечает критериям достаточной чувствительности и

специфичности, но для стабильного определения малых количеств ЭТ чувствительность его недостаточна. Метод не дает возможности проверить отрицательные результаты и, следовательно, выявить среди них ложноотрицательные, что снижает его диагностическую ценность.

При работе этим методом необходим люминесцентный микроскоп и опытный, квалифицированный лаборантский состав.

Иммуноферментный анализ известен давно и широко применяется для диагностики в инфекционной патологии. В настоящее время на рынке диагностических тест-систем предлагается большое количество наборов как зарубежных, так и отечественных фирм-производителей. Методом ИФА преимущественно определяют наличие и титр (либо количество) противохламидийных антител—иммуноглобулинов различных классов в сыворотке крови обследуемого. Хламидии обладают слабой антигенной активностью, вследствие чего выработка и накопление антител в организме происходят в малых количествах. Кровь для исследования следует брать в период ярких клинических проявлений преимущественно системного характера. Сыворотку, полученную после центрифугирования, при необходимости можно хранить при температуре 4—8°С до 5 дней либо при температуре минус 20°С 1 месяц. Рекомендуется исследовать парные сыворотки для выявления динамики титра антител в процессе течения заболевания и проводимого лечения. Методика постановки ИФА приводится в инструкции к каждому конкретному набору и включает, как правило, следующие основные этапы:

1. Инкубация соответствующего разведения сыворотки крови обследуемого на планшете с сенсibilизированным хламидийным антигеном для взаимодействия с ним специфических противохламидийных антител (иммуноглобулинов)—образование комплекса антиген-антитело (АГ-АТ);

2. Отмывание планшета от несвязавшихся иммуноглобулинов;

3. Инкубация образовавшегося комплекса АГ-АТ с антисывороткой к иммуноглобулинам человека (общим или какого-либо определенного класса, в зависимости от того, определяется ли просто факт наличия АТ к хламидиям или наличие АТ, относящихся к определенному классу иммуноглобулинов А, М, G), меченой ферментом;

4. Отмывание планшета от несвязавшихся меченых антител;

5. Проведение ферментативной биохимической реакции, в результате которой образуется цветной продукт. Интенсивность окраски раствора соответствует количеству фермента в реакционной смеси и, следовательно, количеству образовавшихся комплексов АГ-АТ, число которых определяется содержанием противохламидийных антител в сыворотке крови обследуемого.

В последнее время появились ИФА тест-системы, в которых на 3 этапе используют антитела, меченные флюорохромами. В этом случае 5 этап не проводят, количество антихламидийных антител определяют измерением свечения образовавшихся сложных комплексов АГ-АТ- меченое АТ.

Некоторые фирмы (Labsystems, Финляндия и др.) предлагают ИФА тест-системы для обнаружения хламидийного антигена в отделяемом или соскобах

со слизистых оболочек урогенитального тракта, прямой кишки, конъюнктивы глаз и пр. Биоматериал берут специальными зондами и помещают в транспортную среду для хранения и предварительной обработки. Дальнейший анализ включает те же этапы, что и при исследовании сыворотки крови. Обнаружить хламидийный антиген ИФА-методом удается у 60—70% больных.

Противохламидийные АТ обнаруживаются также лишь у 60-70% больных. Уровень антител зависит как от иммунореактивности организма, так и от скорости их элиминации из организма. Наиболее целесообразно использовать определение уровня противохламидийных АТ для оценки динамики течения заболевания и корректности проводимой терапии. Для этого проводят исследование парных сывороток крови. Четырехкратное и более увеличение титра АТ свидетельствует об обострении или прогрессировании заболевания. Снижение титра антител в процессе лечения свидетельствует об адекватности и эффективности проводимых лечебных мероприятий. Противохламидийные АТ могут сохраняться в организме после излечения до года и более.

ИФА-методы сравнительно просты в выполнении, не требуют значительных временных затрат (время реакции от момента взятия материала до получения ответа составляет 1,5—3,5 часа).

Необходимо отметить, что в большинстве производимых сегодня ИФА и ПИФ-тестов в качестве антигена твердой фазы используется специфический трисахаридный фрагмент липополисахаридного антигена хламидий, структура которого сходна у всех видов, входящих в семейство *Chlamydia-*

*seae*. Использование этих тестов не дает возможности установить, каким видом хламидий вызвано заболевание. Видовая идентификация хламидий возможна с использованием методов, основанных на обнаружении генома возбудителя.

В литературе накоплен обширный клинико-лабораторный опыт по использованию метода ПЦР для выявления хламидий. Метод основан на выделении специфической последовательности ДНК или РНК возбудителя при помощи комплементарных праймеров (искусственно синтезированных олигонуклеотидов), последующего ее многократного копирования (амплификации) и накопления для дальнейшего выявления обычными методами детекции (электрофорез или ИФА). Данный метод обладает высокой специфичностью и чувствительностью, практически приближающейся к культуральному, и позволяет обнаружить единичных возбудителей в исследуемом материале. Метод ПЦР требует специального дорогостоящего оборудования, отдельной специально оснащенной лаборатории, соответствующей подготовки и высокой квалификации медицинского персонала. Вместе с тем, отсутствие сертификации используемых в России праймеров и достаточного опыта применения метода ПЦР, специфичность исследуемого материала, частая его контаминация сопутствующей микрофлорой (что может давать ложноположительные результаты) не позволяют однозначно судить о его ценности при диагностике хламидиозов.

Таким образом, в настоящее время наиболее доступными и информативными методами для диагностики хла-

Таблица 6

Характеристика сывороток стандартной панели (002),  
содержащих и не содержащих видоспецифические IgG  
к *Chlamydia trachomatis*.

| №<br>сыворотки                 | Наименование ИФА тест-систем                                  |         |  |         |   |         |
|--------------------------------|---|---------|--|---------|---|---------|
|                                | "Chlamydia trachomatis-<br>IgA-pELISA" ("Medac",<br>Германия) |         | "ХЛАМИ-IgG-ДС-ТР"<br>«Медико-биологический<br>союз» (Россия) |         | "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИ-<br>ДИЯ ТР-G"<br>"Диагностические систе-<br>мы" (Н.Новгород) |         |
|                                | ОП  | ОП/ОПкр | ОП   | ОП/ОПкр | ОП  | ОП/ОПкр |
| <b>Отрицательные сыворотки</b> |   |         |  |         |   |         |
| 1                              | 0,094   | 0,25    | 0,083  | 0,33    | 0,094   | 0,27    |
| 2                              | 0,122   | 0,33    | 0,071  | 0,28    | 0,069   | 0,20    |
| 3                              | 0,201   | 0,54    | 0,096  | 0,38    | 0,102   | 0,30    |
| 4                              | 0,282   | 0,76    | 0,084  | 0,33    | 0,083   | 0,25    |
| 5                              | 0,045   | 0,12    | 0,082  | 0,32    | 0,140   | 0,42    |
| 6                              | 0,110   | 0,30    | 0,094  | 0,37    | 0,101   | 0,30    |
| 7                              | 0,068   | 0,18    | 0,118  | 0,46    | 0,096   | 0,29    |
| 8                              | 0,131   | 0,35    | 0,161  | 0,63    | 0,082   | 0,24    |
| 9                              | 0,068   | 0,18    | 0,099  | 0,39    | 0,102   | 0,31    |
| 10                             | 0,138   | 0,34    | 0,093  | 0,37    | 0,106   | 0,32    |
| 11                             | 0,125   | 0,37    | 0,084  | 0,33    | 0,087   | 0,26    |
| 12                             | 0,201   | 0,54    | 0,134  | 0,53    | 0,095   | 0,28    |
| 13                             | 0,026   | 0,07    | 0,102  | 0,40    | 0,157   | 0,47    |
| 14                             | 0,211   | 0,57    | 0,098  | 0,38    | 0,118   | 0,35    |
| 15                             | 0,102   | 0,28    | 0,096  | 0,38    | 0,087   | 0,26    |
| 16                             | 0,131   | 0,35    | 0,114  | 0,45    | 0,069   | 0,21    |
| 17                             | 0,109   | 0,30    | 0,140  | 0,55    | 0,053   | 0,16    |
| 18                             | 0,060   | 0,16    | 0,075  | 0,29    | 0,074   | 0,22    |
| 19                             | 0,304   | 0,82    | 0,076  | 0,30    | 0,066   | 0,20    |
| 20                             | 0,098   | 0,27    | 0,119  | 0,47    | 0,071   | 0,21    |
| <b>Положительные сыворотки</b> |   |         |  |         |   |         |
| 21                             | 0,600   | 1,62    | 0,689  | 2,70    | 2,6   | 7,9     |
| 22                             | 0,945   | 2,55    | 1,185  | 4,65    | 2,5   | 7,9     |
| 23                             | 0,636   | 1,72    | 1,723  | 6,76    | 2,391   | 7,2     |
| 24                             | 0,679   | 1,84    | 0,757  | 2,97    | 0,827   | 2,5     |
| 25                             | 0,602   | 1,62    | 0,440  | 1,73    | 1,097   | 3,35    |
| 26                             | 2,287   | 6,18    | 2,887  | 11,28   | 2,543   | 7,6     |
| 27                             | 0,715   | 1,93    | 1,162  | 4,56    | 2,041   | 6,1     |
| 28                             | 0,414   | 1,12    | 0,989  | 3,88    | 1,007   | 3,0     |
| 29                             | 0,515   | 1,39    | 0,946  | 3,71    | 0,745   | 2,2     |
| 30                             | 1,082   | 1,92    | 0,813  | 3,19    | 2,046   | 6,1     |
| 31                             | 0,934   | 2,52    | 1,554  | 6,10    | 0,645   | 1,9     |
| 32                             | 0,421   | 1,14    | 0,411  | 1,61    | 2,503   | 7,5     |
| 33                             | 0,383   | 1,04    | 1,446  | 5,67    | 1,389   | 4,1     |
| 34                             | 1,355   | 3,67    | 1,972  | 7,73    | 2,464   | 7,4     |
| 35                             | 0,406   | 1,10    | 0,326  | 1,28    | 1,808   | 5,4     |
| 36                             | 0,954   | 2,58    | 0,428  | 1,68    | 0,952   | 2,8     |

мидиозов являются серологические методы и, в частности, иммуноферментный анализ. Задачей разработчиков тест-систем нового поколения является обеспечение возможности проводить дифференциальную диагностику хламидиозов, что достигается при оптимальном подборе антигенов, специфичных для определенного вида хламидий.

### **VIII. Тест-системы для диагностики хламидиоза производства ООО "НПО "Диагностические системы"**

В ООО "НПО "Диагностические системы" были разработаны иммуноферментные тест-системы для выявления видоспецифических антител класса G и класса A к *Chlamydia trachomatis* в сыворотке (плазме) крови человека, соответственно, тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G" и "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A".

Тест-система "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G" представляет собой многокомпонентный набор, где используется смесь высокоочищенного видоспецифического рекомбинантного антигена, аналога главного белка наружной мембраны *Chlamydia trachomatis* (МОМР) и синтетического пептида E-78; в качестве конъюгата используются мышинные моноклональные антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена.

Проведена оценка чувствительности и специфичности тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G" с использованием сывороток, содержащих и не содержащих IgG к *Chlamydia trachomatis*, из стандартной панели

ОСО-42-28-313-00 производства ЗАО "Медико-биологический союз" ("МБС"), Новосибирск. В таблице 6 приведены значения ОП сывороток панели при проведении ИФА в сравнении с тест-системами трех производителей: "Medac" Германия— "Chlamydia trachomatis-IgG-pELISA"; "МБС", Новосибирск "Хлами-IgG-ДС-TR"; "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G" "Диагностические системы" (Н.Новгород).

Тест-система "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G" продемонстрировала 100%-ную чувствительность—выявлены все 16 позитивных сывороток панели. Значение оптической плотности (ОП) отрицательных образцов панели ниже ОПкрит., таким образом, специфичность тест-системы составила 100%.

В процессе разработки на предприятии было проведено сравнение диагностической эффективности тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G" и тест-системы "ХЛАМИ-IgG-ДС-TR" производства "МБС", Новосибирск (Таблица 7). Исследование было проведено с использованием образцов сывороток больных хламидиозом, сифилисом (с установленными клиническими диагнозами сыворотки представлены КВД Сормовского района Н.Новгорода); образцов сывороток от больных вирусными гепатитами В и С (инфекционная клиническая больница №2 Н.Новгорода) и сывороток доноров крови (Железнодорожная СПК Н.Новгорода).

В группе больных с установленным диагнозом хламидиоза с помощью обеих сравниваемых систем выявлено содержание IgG у всех обследованных (90 сывороток). Диагностическая эффективность этих тест-систем одинакова и составляет 100% в данной группе обследуемых.

Следует отметить, что наиболее высокий процент образцов, содержащих IgG к Chlamydia trachomatis, выявлен среди сывороток, полученных от больных сифилисом. Это подтверждает литературные данные о частом сочетании хламидиозов с другими заболеваниями половой сферы.

Тест-система "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ IgA" предназначена для выявления IgA к антигену наружной мембраны Chlamydia trachomatis методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке (плазме) крови человека с целью специфической диагностики и оценки острой фазы хламидийной инфекции.

Действующим началом предложенной тест-системы являются: аффинно очищенный рекомбинантный антиген, аналогичный иммунодоминантным

участкам основного белка наружной мембраны (MOMP) Chlamydia trachomatis, сорбированный на твердой фазе и конъюгат мышинных моноклональных антител к IgA человека, меченные пероксидазой хрена.

Проведена оценка чувствительности и специфичности тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A" с использованием сывороток, содержащих IgA к Chlamydia trachomatis, из стандартной панели СОС-42-28-313-00 производства ЗАО "МБС", Новосибирск. В таблице 8 представлены значения ОП сывороток стандартной панели при проведении ИФА с тест-системами разных производителей: "Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA"—"Medac" Германия; "ХЛАМИ-IgA-ДС-TR"—"МБС", г. Новосибирск; "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A" производства ООО «НПО «Диагностические системы», Н.Новгород. Установлена

Таблица 7

**Сравнительная оценка диагностической эффективности тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G" и тест-системы "ХЛАМИ-IgG-ДС-TR" ("МБС")**

| Исследуемые сыворотки         | Результаты тестирования в "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G", Н.Новгород |  |     | Результаты тестирования в "ХЛАМИ-IgG-ДС-TR", Новосибирск |  |     |
|-------------------------------|---|--|-----|--|--|-----|
|                               | Всего иссл. сывороток   | Количество выявленных образцов с IgG к Chlamydia trachomatis |     | Всего иссл. сывороток                                    | Количество выявленных образцов с IgG к Chlamydia trachomatis |     |
|                               |   | Абсол. количество  | %   |  | Абсол. количество  | %   |
| Сыворотки больных хламидиозом | 90  | 90   | 100 | 90   | 90   | 100 |
| Сыворотки больных ВГВ         | 100   | 14   | 14  | 100  | 14   | 14  |
| Сыворотки больных ВГС         | 80  | 12   | 15  | 80   | 12   | 15  |
| Сыворотки больных сифилисом   | 120   | 42   | 35  | 120  | 42   | 35  |
| Сыворотки доноров крови       | 250   | 30   | 12  | 250  | 30   | 12  |

Таблица 8

Характеристика сывороток стандартной панели, содержащих и не содержащих видоспецифические IgA к *Chlamydia trachomatis*

| № сыворотки                    | Наименование ИФА тест-систем                           |         |  |         |   |         |
|--------------------------------|--|---------|--|---------|---|---------|
|                                | "Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA" ("Medac", Германия) |         | "ХЛАМИ-IgG-ДС-TR" «Медико-биологический союз» (Россия) |         | "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИ-ДИЯ TR-G" "Диагностические системы" (Н.Новгород) |         |
|                                | ОП   | ОП/ОПкр | ОП   | ОП/ОПкр | ОП  | ОП/ОПкр |
| <b>Отрицательные сыворотки</b> |  |         |  |         |   |         |
| 1                              | 0,132  | 0,39    | 0,088  | 0,35    | 0,106   | 0,327   |
| 2                              | 0,094  | 0,28    | 0,070  | 0,28    | 0,148   | 0,457   |
| 3                              | 0,073  | 0,22    | 0,057  | 0,23    | 0,181   | 0,558   |
| 4                              | 0,083  | 0,25    | 0,057  | 0,23    | 0,301   | 0,929   |
| 5                              | 0,209  | 0,62    | 0,063  | 0,25    | 0,059   | 0,182   |
| 6                              | 0,236  | 0,70    | 0,060  | 0,24    | 0,023   | 0,071   |
| 7                              | 0,207  | 0,61    | 0,061  | 0,24    | 0,160   | 0,493   |
| 8                              | 0,157  | 0,46    | 0,180  | 0,72    | 0,108   | 0,333   |
| 9                              | 0,200  | 0,59    | 0,147  | 0,59    | 0,049   | 0,151   |
| 10                             | 0,166  | 0,49    | 0,178  | 0,71    | 0,10  | 0,312   |
| 11                             | 0,163  | 0,48    | 0,098  | 0,39    | 0,080   | 0,247   |
| 12                             | 0,239  | 0,71    | 0,078  | 0,31    | 0,025   | 0,077   |
| 13                             | 0,089  | 0,26    | 0,057  | 0,23    | 0,278   | 0,858   |
| 14                             | 0,127  | 0,38    | 0,070  | 0,28    | 0,025   | 0,077   |
| 15                             | 0,204  | 0,60    | 0,075  | 0,30    | 0,107   | 0,330   |
| 16                             | 0,119  | 0,35    | 0,071  | 0,28    | 0,073   | 0,225   |
| 17                             | 0,096  | 0,28    | 0,101  | 0,40    | 0,052   | 0,160   |
| 18                             | 0,118  | 0,35    | 0,077  | 0,31    | 0,095   | 0,293   |
| <b>Положительные сыворотки</b> |  |         |  |         |   |         |
| 19                             | 0,346  | 1,02    | 0,369  | 1,47    | 0,707   | 2,182   |
| 20                             | 0,649  | 1,92    | 1,807  | 7,20    | 0,565   | 1,744   |
| 21                             | 0,933  | 2,76    | 1,491  | 5,94    | 0,558   | 1,815   |
| 22                             | 0,459  | 1,36    | 0,361  | 1,44    | 0,362   | 1,117   |
| 23                             | 0,423  | 1,26    | 3,316  | 1,26    | 0,512   | 1,580   |
| 24                             | 0,380  | 1,12    | 0,317  | 1,26    | 0,989   | 3,052   |
| 25                             | 0,352  | 1,04    | 0,315  | 1,26    | 0,764   | 2,358   |
| 26                             | 1,260  | 3,73    | 2,585  | 10,30   | 2,038   | 6,290   |
| 27                             | 0,371  | 1,10    | 0,593  | 2,36    | 1,498   | 4,623   |
| 28                             | 1,951  | 5,76    | 1,606  | 6,40    | 1,959   | 6,046   |
| 29                             | 0,400  | 1,18    | 0,255  | 1,02    | 0,335   | 1,034   |
| 30                             | 0,485  | 1,44    | 0,267  | 1,06    | 1,707   | 5,268   |

100% чувствительность тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A"—были выявлены все 12 позитивных сывороток панели; специфичность представляемой тест-системы также составила 100%—все отрицательные сыворотки панели имеют ОП ниже критической.

Проведена сравнительная оценка реактивности тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A" и тест-системы "Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA" производства фирмы "Medac", Германия (Таблица 9).

Из 40 сывороток от больных с клинически установленным диагнозом хламидиоза в тест-системе производства "Medac" все 40 сывороток зарегистрированы как положительные, что составило 100%. При помощи тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A" в этой группе было выявлено 39 сывороток, содержащих IgA к *Chlamydia trachomatis*, что составило 97,5%.

В группе сывороток от доноров (60 образцов) при использовании тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A" были выявлены 2 сыворотки, содержащие IgA к *Chlamydia trachomatis*. Таким образом, обе тест-системы продемонстрировали близкую диагностическую эффективность. Выявленные различия между тест-системами могут быть обусловлены использованием фирмами—производителями разных антигенов *Chlamydia trachomatis* для адсорбции на твердой фазе.

Было проведено исследование сывороток крови от разных групп населения на содержание IgA к *Chlamydia trachomatis* с помощью тест-системы "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A" (Таблица 10). В группе больных кожно-венерологи-

ческими заболеваниями отмечен повышенный процент сывороток, содержащих IgA к *Chlamydia trachomatis*—22,0%, в то время как в среднем среди населения процент выявляемости IgA к *Chlamydia trachomatis* составляет 5,9—6,5%.

Тест-системы: "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-G" и "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A" "ДС-ИФА-АНТИ-Хламидия TR-M" прошли государственные испытания в Государственном институте стандартизации и контроля в шифрованном клиническом опыте. Исследовали 200 сывороток, полученных от больных с различными поражениями мочеполовой системы хламидийной этиологии, от больных с заболеваниями половой сферы нехламидийной этиологии и от здоровых людей без клинических жалоб. Показатели чувствительности и специфичности наших тест-систем по отношению к референс тест-системам составили 95-98%.

Как было сказано, образование антител против антигенных структур происходит только на стадии ЭТ. При развитии хронического уrogenитального хламидиоза репродуктивная фаза (фаза РТ) затягивается на длительный период, кроме того, на этой стадии может происходить блокировка продукции самого МOMP или происходит структурная модификация иммунодоминантных белков клеточной стенки. Все это приводит к тому, что антитела к МOMP слабо взаимодействуют с антигеном или вообще не взаимодействуют. Также возможно экранирование МOMP от распознавания путем включения структурных компонентов клеток хозяина в поверхностные образования хламидий. Исходя из этого была созда-



на тест-система на основе плазмидного белка pgp3 для качественной диагностики урогенитального хламидиоза—"ДС-ИФА-АНТИ-Хламидия TR-

G-PGp3". Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к плазмидному белку возбудителя хламидиоза Chlamydia trachomatis в

Таблица 9

Сравнительная оценка диагностической эффективности тест-систем "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ-IgA" (НПО "ДС", Россия) и "Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA" ("Medac", Германия)

| Исследуемые сыворотки         | Результаты тестирования в "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A", Н.Новгород |                        |      | Результаты тестирования в "Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA", Германия |                        |     |
|-------------------------------|---|------------------------|------|--|------------------------|-----|
|                               | Всего исследовано сывороток                                       | Выявлено с анти-хлам А |      | Всего исследовано сывороток  | Выявлено с анти-хлам А |     |
|                               |   | Абсол. количество      | %    |  | Абсол. количество      | %   |
| Сыворотки больных хламидиозом | 40  | 39                     | 97,5 | 40   | 40                     | 100 |
| Сыворотки доноров             | 60  | 2                      | 3,33 | 60   | 0                      | 0   |

Таблица 10

Результаты исследований образцов сывороток пациентов с различными заболеваниями и доноров крови на содержание IgA к Chlamydia trachomatis в тест-системе "ДС-ИФА-АНТИ-ХЛАМИДИЯ TR-A"

| Категории обследованных лиц                   | Количество исследованных проб | Количество патогенных образцов |      |
|---|-------------------------------|--------------------------------|------|
|   |                               | абсолютное количество          | %    |
| Больные вирусным гепатитом группы "С"         | 336                           | 22                             | 6,5  |
| Больные вирусным гепатитом группы "В"         | 324                           | 17                             | 5,9  |
| Больные кожно-венерологическими заболеваниями | 218                           | 48                             | 22,0 |
| Доноры службы крови                           | 109                           | 7                              | 6,4  |

## Основные характеристики и преимущества тест-систем производства ООО "НПО "Диагностические системы":

### Основные характеристики:

- в лунках планшета иммобилизованы смесь рекомбинантного антигена, аналога главного белка наружной мембраны *Chlamydia trachomatis* (MOMP) и синтетического пептида E-78;
- общее время инкубации— 1 час 30 минут;
- объем образца— 10 мкл стандартно подготовленной сыворотки или плазмы крови;
- учет результатов спектрофотометрически при длине волны 450 нм (ТМБ);
- срок хранения наборов 12 месяцев (при температуре от 4 до 8<sup>0</sup>С);
- в случае дробного использования набора интервал между первой и последней постановками не должен превышать 1 месяц (срок хранения вскрытых компонентов системы).

### Выводы:

- Созданы тест-системы для диагностики Ig классов G, A, M к *Chlamydia trachomatis* на основе рекомбинантных белков производства "ДС" и пептида.
- Тест-системы сравнимы по чувствительности и специфичности с аналогами других производителей.
- Чувствительность и специфичность по ОСО 100%.
- Создана новая тест-система на основе рекомбинантного белка производства ДС—PGP3—для расширения возможностей серологической диагностики урогенитального хламидиоза.

### Преимущества:

- дифференциальная диагностика урогенитального хламидиоза;
- высокая чувствительность и специфичность;
- возможность полуколичественного учета результатов путем определения титра видоспецифических IgG, IgA;
- анализ соотношений видоспецифических IgG, IgA в сыворотке крови пациента, возможность определить стадию заболевания и осуществить контроль за лечением;
- определение IgM для диагностики первичной инфекции;
- определение анти-PGP3 для расширения возможностей серологической диагностики.

## Список литературы

1. Кротов С.А. Хламидиозы: эпидемиология, характеристика возбудителя, методы лабораторной диагностики, лечение генитального хламидиоза. Реферативное сообщение / С.А.Кротов, В.А.Кротова, С.Ю.Юрьев // Кольцово.—1997.—С.63.

2. Погодин О.К. Хламидийная инфекция в акушер-

стве, гинекологии, перинатологии / О.К.Погодин.—Петрозаводск: Изд. ПетрГУ, 1997.—168 С.

3. Брагина Е.Е. Некоторые особенности жизненного цикла хламидий. Атипичные формы существова-

- ния (Обзор литературы) / Е.Е. Брагина, О.Е. Орлова, Г.А. Дмитриев // ЗППП.—1998.—№1.—С. 3—9.
4. Маянский А.Н. Микробиология для врачей / А.Н. Маянский.—Н.Новгород: Изд. НГМА, 1999.—С.218—233.
5. Хламидийная инфекция. Особенности и диагностические возможности: Медак—Диагностика.—1999.—С.31С.
6. Эйдельштейн И.А. Фундаментальные изменения в классификации хламидий и родственных им микроорганизмов порядка Chlamydiales / И.А. Эйдельштейн // Клин. микробиол. и антимикробная химиотерапия.—1999.—№1.—С. 5—11.
7. Куляшова Л.Б. Опыт диагностики хламидийной инфекции / Л.Б. Куляшова, Л.А. Березина, М.Б. Иванова // Клин. лаб. диагностика.—2000.—№10.—С.39.
8. Лиходед В.Г., Роль Chlamydia pneumoniae в этиологии атеросклероза / В.Г. Лиходед, В.Р. Мартынова // ЖМЭИ.—2000.—№4.—С. 117—121.
9. Мортон Р.С. Урогенитальная хламидийная инфекция: переоценка данных и гипотезы / Мортон Р.С., Кингхорн Дж. Р. // ИППП.—2000.—№2.—С.4—15.
10. Позднякова Р.Э. Лабораторная диагностика хламидиозов / Р.Э. Позднякова, Е.Е. Потеленина, С.А. Демидова // Клин. лаб. диагностика.—2000.—№10.—С.8—9.
11. Вдовиченко М.А. Опыт применения иммуноферментного метода для выявления хламидийной инфекции в амбулаторных условиях / М.А. Вдовиченко // Клин. лаб. диагностика.—2001.—№10.—С.22.
12. Вишнякова М.А. Пневмококковая и хламидийная инфекция в закрытом коллективе. Журн. микробиол. / М.А. Вишнякова, С.Д. Жоголев, И.Р. Мошквич // 2001.—№4.—С. 60—64.
13. Захаренко Л.П. Сравнительный анализ методов диагностики хламидиоза / Л.П. Захаренко, Е.И. Рябчикова, Н.Н. Колодина // Клин. лаб. диагностика.—2001.—№2.—С.36—38.
14. Тучина Н.А. Лабораторная диагностика хламидиозов / Н.А. Тучина // Клин. лаб. диагностика.—2001.—№10.—С.28—29.
15. Глазкова Л.К. Особенности течения хламидийной инфекции у беременных. Совершенствование диагностики и лечения / Л.К., Глазкова Н.В. Башмакова, Ю.И. Моторюк, И.И. Ремизова // ИППП.—2002.—С. 15—20.
16. Дмитриев Г.А. Урогенитальная хламидийная инфекция. Подходы к диагностике и терапии / Г.А. Дмитриев // ИППП.—2002.—№2.—С.21—24.
17. Манзенюк И.Н., Оценка первой отечественной иммуноферментной рекомбинантной тест—системы "Хлами-IgG; А-ДС-Tr" / И.Н. Манзенюк, М.С. Воробьева, Н.М. Никитюк и др. // Клин. лаб. диагностика. 2002.—№6.—С. 40—41.
18. Прохоренко В.И. О классификации урогенитального хламидиоза / М.В. Шапран., В.И. Прохоренко // ИППП.—2002.—№2.—С.3—5.
19. Старк А. Европейское руководство по ведению больных с хламидийной инфекцией / А. Старк // ИППП.—2002.—№1.—С. 25—29.
20. Шаткин А.А. Урогенитальные хламидиозы / А.А. Шаткин, И.И. Мавров.—Киев: Здоровье, 1983.—200С.
21. Эйдельштейн И.А. Разработка молекулярно—генетических методов для выявления и дифференциации представителей семейства Chlamydiae: Автореф-дис. к-та биол. наук.—М., 2004.—24С.
22. Batteiger B.E. Species-, Serogroup-, and Serovar-Specific Epitopes Are Juxtaposed in Variable Sequence Region 4 of the Major Outer Membrane Proteins of Some Chlamydia trachomatis Serovars / B.E. Batteiger, P.—M. Lin, R.B. Jones et al. // Infection and Immunity.—July 1996.—Vol.64.—№7.—P. 2839—2841.
23. Birkelund S. Characterization of Two Conformational Epitopes of the Chlamydia trachomatis Serovar L2 DnaK Immunogen / S. Birkelund, P. Mygind, A. Holm et al. // Infection and Immunity.—Mar. 1996.—Vol.64.—№3.—P. 810—817.
24. Kaltenboeck B. Use of Synthetic Antigens Improves Detection by Enzyme—Linked Immunosorbent Assay of Antibodies against Abortigenic Chlamydia psittaci in Ruminants / B. Kaltenboeck, D. Heard, F. DeGraves et al. // Journal of Clinical Microbiology.—Sept. 1997.—Vol. 35—№9.—P. 2293—2298.
25. Narvanen A. Detection of Antibodies to Chlamydia trachomatis With Peptide—Based Species—Specific Enzyme Immunoassay / A. Narvanen, M. Puolakka-inen, W. Hao et al. // Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology.—1997.—№5.—P. 349—354.
26. Gerbase A.C. Global epidemiology of sexually transmitted diseases / Gerbase A.C., Rowley J.T., Mertens T.E. // Lancet.—1998.—V. 351.—P. 2—4.
27. Myers G. Expression of two novel proteins in Chlamydia trachomatis during natural infection / G. Myers, R. Grinvalds, S. Booth et al. // Journal of Microb. Pathol.—Aug. 2000.—Vol. 29.—№2.—P. 63—72.
28. Mygind P. Detection of Chlamydia trachomatis—specific antibodies in human sera by recombinant major outer—membrane protein polyantigens / P. Mygind G. Christiansen, K. Persson et al. // Journal of Med. Microbiology.—May 2000.—Vol. 49.—№5.—P. 457—465.
29. Tanaka M. Evaluation of a new amplified enzyme immunoassay (EIA) for the detection of Chlamydia trachomatis in male urine, female endocervical swab, and patient obtained vaginal swab specimens / M. Tanaka, H. Nakayama, K. Sagiyama et al. // Journal of Clinical Pathol.—2000.—Vol. 53.—P. 350—354.
30. Bas S. Chlamydia Serology: Comparative Diagnostic Value of Immunoblotting, Microimmunofluorescence Test, and Immunoassays Using Different Recombinant Proteins as Antigens / S. Bas, P. Muzzin, B. Ninet et al. // Journal of Clinical Microbiology.—Apr. 2001.—Vol. 39.—№4.—P. 1368—1377.
31. Bas S. Chlamydia trachomatis Serology: Diagnostic Value of Outer Membrane Protein 2 Compared with That of Other Antigens / S. Bas, P. Muzzin, T. Vischer // Journal of Clinical Microbiology.—Nov. 2001.—Vol. 39.—№11.—P. 4082—4085.
32. Morre S. Comparison of three commercially available peptide—based immunoglobulin G (IgG) and IgA assays to microimmunofluorescence assay for detection of Chlamydia trachomatis antibodies / S. Morre, C. Munk, K. Persson et al. // Journal of Clinical Microbiology.—Feb. 2002.—Vol. 40.—№2.—P. 584—587.



**Нижний Новгород**

**Главный офис:**

ООО «НПО «Диагностические системы»  
603093, Нижний Новгород,  
ул. Яблоневая, д. 22  
тел. (831) 434-86-83

**Отдел сбыта:**

Нижне-Волжская набережная, д. 9  
тел. (831) 461-92-02  
тел./факс (831) 461-92-15, 461-92-16, 461-92-17  
8-800-555-0300 (Звонок бесплатный)  
info@npods.nnov.ru  
selling@npods.ru  
<http://www.npods.ru>

## Региональные предприятия

|                              |  |
|------------------------------|--|
| <b>Москва</b>                | ООО "Диагностические системы—Столица"<br>117405, Москва, ул. Дорожная, д. 60 Б<br>тел. (495) 411-96-84, 411-96-85, 411-96-86<br>e-mail: ds-stolica@bk.ru zav2006@bk.ru   |
| <b>Санкт-Петербург</b>       | ООО "Диагностические системы—СПб"<br>194044, Санкт-Петербург,<br>пр. Большой Сампсониевский, д. 66, Литер А<br>тел./ факс (812) 702-17-13, 702-17-14<br>spb@npods.ru<br>managerspb@npods.ru                            |
| <b>Красноярск</b>            | ООО "Диагностические системы—Сибирь"<br>660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 16 д<br>тел./ факс (3912) 54-16-55, 54-14-66, 54-17-58<br>ds-siberia@scn.ru  |
| <b>Республика Украина</b>    | ООО "Диагностические системы—Украина"<br>04210, Киев, а/я 119<br>тел. (10-380-44) 501-90-80,<br>тел./факс 501-91-00, ua@npods.ru   |
| <b>Республика Казахстан</b>  | ТОО "Диагностические системы—Казахстан"<br>050034, Алматы, ул. Бродского, д. 37 а, офис 227<br>тел./факс (3272) 27-37-68, 27-37-69<br>ds-kazakstan@mail.kz   |
| <b>Республика Узбекистан</b> | ООО "Диагностические системы—Бактрия"<br>100015, Ташкент, ул. Ойбек, д. 32<br>тел./факс (998 71) 152-23-15, 152-23-16<br>тел.: (998 98) 127-15-87,<br>(998 93) 181-75-21,<br>(998 97) 157-20-77<br>ds-baktriya@mail.ru |
| <b>Ростов-на-Дону</b>        | Обособленное подразделение<br>344068, г. Ростов-на-Дону<br>пр. М. Нагибина, д. 33 а/47, 3 этаж, офис 5<br>тел./факс (863) 292-41-01,<br>моб. 8-8632-75-66-22<br>RostovDon@npods.ru                                     |
| <b>Чита</b>                  | Обособленное подразделение<br>672000, г. Чита, ул. 9 января, д. 6, офис 103<br>тел. (3022) 35-27-91,<br>chitanpods@mail.ru   |