

**НИИ физико-химической медицины МЗ РФ
Научно-производственная фирма «ЛИТЕХ»
Центральная клиническая больница Медицинского Центра УД Президента РФ
Российская медицинская академия последипломного образования**

*Кудрявцева Л.В., Мисюрин О.Ю., Генерозов Э.В.,
Говорун В.М., Бурова А.А., Маликов В.Е., Липова Е.В., Баткаев Э.А.*

Клиника, диагностика и лечение хламидийной инфекции

(Пособие для врачей)

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	1
Биологические свойства хламидий	2
Клиническая картина хламидийной инфекции	7
Клинические проявления урогенитальной хламидийной инфекции у женщин.....	8
Клинические проявления урогенитальной хламидийной инфекции у мужчин	10
Особенности хламидийной инфекции у детей	10
Диагностика хламидиоза	12
Техника взятия материала для исследования	12
Методы лабораторной диагностики хламидийной инфекции	15
Методы прямого выявления <i>Chlamydia trachomatis</i>	15
Микробиологическое исследование.....	15
Цитологический метод обнаружения хламидий	16
Иммуноцитологический метод	16
ИФА с определением бактериальных антигенов	17
Методы экспресс-диагностики.....	17
Диагностика <i>Chlamydia trachomatis</i> методом Полимеразной Цепной Реакции	17
Методы непрямого выявления <i>Chlamydia trachomatis</i>	21
Изменения иммунного статуса при хламидийной инфекции	23
Основные принципы лечения больных хламидийной инфекцией	23
Схема лечения нижнего отдела урогенитального тракта	26
Схема лечения осложненного хламидиоза	26
Лечение хламидиоза у детей	27
Заключение	28
Литература	28

Введение

В настоящее время установлено, что хламидии способны поражать человека и многие виды животных, вызывая разнообразные заболевания, поражающие все органы, включая и мочеполовые. Этиологическая роль хламидийной урогенитальной инфекции является доказанной не только при таких урогенитальных заболеваниях, как неспецифический уретрит, цервицит, венерическая лимфогранулема, но и при болезни Рейтера. Наряду с передачей инфекции преимущественно половым путем нельзя исключить, что источником хламидийной урогенитальной инфекции могут быть так же и млекопитающие, часто поражаемые возбудителями из группы пситтакоза - венерической лимфогранулемы-трахомы.

Вопрос о возможной роли хламидийной инфекции млекопитающих в происхождении урогенитальных заболеваний человека до сих пор не изучен. В литературе имеются отдельные сообщения о том, что хламидийные урогенитальные заболевания встречаются чаще у сельских жителей, контактирующих с животными, а также среди людей таких профессий, как ветеринары, животноводы и др. Заболевания эти часто остаются нераспознанными.

Наибольшее значение в настоящее время представляют хламидийные заболевания, которые передаются от человека к человеку: трахома, конъюнктивит, болезнь Рейтера, заболевания урогенитального тракта и венерическая лимфогранулема. Среди всего спектра заболеваний, ассоциированных с *Chlamydia trachomatis*, передающиеся половым путем заболевания урогенитального тракта приобрели особенно большое значение, потому что, как правило, поражают людей в период наибольшей половой активности. К сожалению, эти заболевания диагностируются значительно реже, чем они имеют место. Это связано с тем, что *Chlamydia trachomatis* в урогенитальном тракте может

быть ассоциирована с *Trichomonas vaginalis*, *Nesseria gonorrhoeae* и любым другим патогенным или условно-патогенным микроорганизмом, а в зависимости от этого и клиническое проявление инфекции бывает различным. При смешанной инфекции остро протекающие формы цервицита, уретрита и цистита наблюдаются очень редко. Акушеры-гинекологи, урологи и венерологи гораздо чаще наблюдают хронические заболевания мочеполовой системы (цервициты, уретриты, вульвовагиниты, эндометриты, циститы, простатиты и др.) и относят их к болезням невыясненной этиологии. общепринятые методы антибактериальной терапии в таких случаях нередко оказываются безуспешными, заболевания приобретают затяжное течение с развитием в последующем многочисленных осложнений (импотенция, бесплодие, внутриутробная инфекция и т.д.).

Наряду с характерным течением урогенитального заболевания возможны также атипичные, инapparатные проявления и бессимптомные формы хламидийной инфекции, которые также представляют большие трудности в их диагностике.

Исследования показали, что от 30 до 40% девочек-подростков переносят скрытую хламидийную инфекцию в течение 2-5 лет после первичного заражения. У 70% женщин симптомов хламидийного заболевания гениталий может вовсе не быть. У мужчин при негонококковых уретритах хламидии выявляются в 40% случаев, у женщин при цервицитах - в 36% случаев, а при эрозии шейки матки - в 47%.

Регистрация урогенитального хламидиоза в России началась с 1993 г. За период с 1993 г по 1998 г заболеваемость урогенитальным хламидиозом возрасла более чем в 3 раза (54813 случаев и 166111 случаев соответственно) и составила 113,8 случаев на 100 тыс населения в 1998 г. Неблагоприятная эпидемиологическая обстановка в настоящее время в нашей стране продолжает сохраняться. По мнению различных исследователей в России ежегодно заболевают урогенитальным хламидиозом более 1,5 млн человек, при этом в большинстве случаев этиологический диагноз не устанавливается.

При обследовании пациентов поликлиник и женских консультаций, роддомов, КВД в Москве из 872 пациентов хламидии удалось выявить в 17,2% случаев. Инфицированность хламидиями населения Новосибирска составляет 30,1%. По данным Екатеринбургского НИКВИ урогенитальный хламидиоз диагностируется у каждой второй женщины с хроническими воспалительными заболеваниями, у 57% женщин, страдающих бесплодием, у 87% женщин с невынашиванием беременности. По данным различных авторов в 15-20% случаев эндоцервицит хламидийной этиологии является причиной воспалительных заболеваний органов малого таза. Кроме того, ряд исследователей отмечают тенденцию к росту экстрагенитальных форм урогенитального хламидиоза. Так, в литературе описаны случаи хламидийных проктитов, фарингитов, конъюнктивитов, пневмоний, болезни Рейтера и др.

Серьезного внимания клиницистов заслуживает урогенитальный хламидиоз беременных, регистрируемый в 10-40% случаев. В этом случае вероятность передачи хламидийной инфекции ребенку составляет 40-50%. По данным НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта у 84,4% детей, инфицированных *Chlamydia trachomatis* внутриутробно, развиваются: повторные риниты, назо-фарингиты (52,6%), вульвиты (43%), конъюнктивиты (33%), заболевания желудочно-кишечного тракта (33%), отиты (17,6%). Персистенция хламидий выявлена у 57% доношенных и у 75% недоношенных детей, которые не получали специфического лечения или получали эритромицин в течение 7-10 дней.

Выявление урогенитальной хламидийной инфекции во многом зависит от уровня организации медицинской службы и возможностей комплексного подхода к диагностике хламидиоза.

Проблема диагностики хламидийной инфекции приобрела особую важность после издания Министерством здравоохранения РФ 7 декабря 1993 г. Приказа № 286 "О совершенствовании контроля за заболеваниями, передающимися половым путем (ЗППП)" и 21 февраля 2000 г. Приказа № 64 "Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований".

В Приказе № 286 проблеме хламидийной урогенитальной инфекции, наряду с сифилисом и гонореей, уделено особое внимание. На основании этого приказа была введена обязательная диагностика хламидиоза у больных с впервые установленным диагнозом ИППП (инфекция, передающаяся половым путем). В приказе описаны методы лабораторной диагностики хламидиоза, определены показания к их проведению и интерпретация полученных результатов с клинической точки зрения, предложен комплекс противоэпидемических, организационных и лечебных мероприятий.

В настоящем пособии изложены особенности биологии хламидий, клиническая картина хламидийной инфекции, определены подходы к комплексной лабораторной диагностике хламидиоза, рассмотрены подходы к его лечению.

Биологические свойства хламидий

Хламидии - мелкие грамотрицательные, неподвижные, облигатно паразитические бактерии, ретикулярные тельца (РТ) которых могут быть разнообразной формы - овальной, полулунной, в виде биполярных палочек и коккобацилл и имеют размер от 300 до 1000 нм, а элементарные тельца (ЭТ) овальной формы могут иметь размер в диаметре 250 - 500 нм. ЭТ хламидий обладают инфекционными свойствами, антигеноактивны, способны проникать в чувствительную клетку, где и происходит уникальный цикл развития хламидий. Предшествующие ЭТ хламидий более крупные РТ не имеют постоянного размера и структуры. У них нет нуклеоида. Их еще называют "незрелыми" или вегетативными частицами. Они не обладают инфекционными свойствами.

Размножаются хламидии только внутри связанных с мембраной вакуолей в цитоплазме клеток человека, млекопитающих и птиц. Размножение происходит в ходе уникального цикла развития, состоящего в превращении мелких форм ЭТ в более крупные РТ, которые претерпевают деление. Хламидии патогенны. Имеют основные признаки бактерий: содержат два типа нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и рибосомы. Клеточная стенка хламидий не содержит мурамную кислоту или содержит ее в следовых количествах.

Развитие молекулярной биологии привело к открытию новых микроорганизмов с характерным для хламидий циклом развития. Определение генома уже известных видов хламидий способствовало пересмотру их номенклатуры (Рис.1).

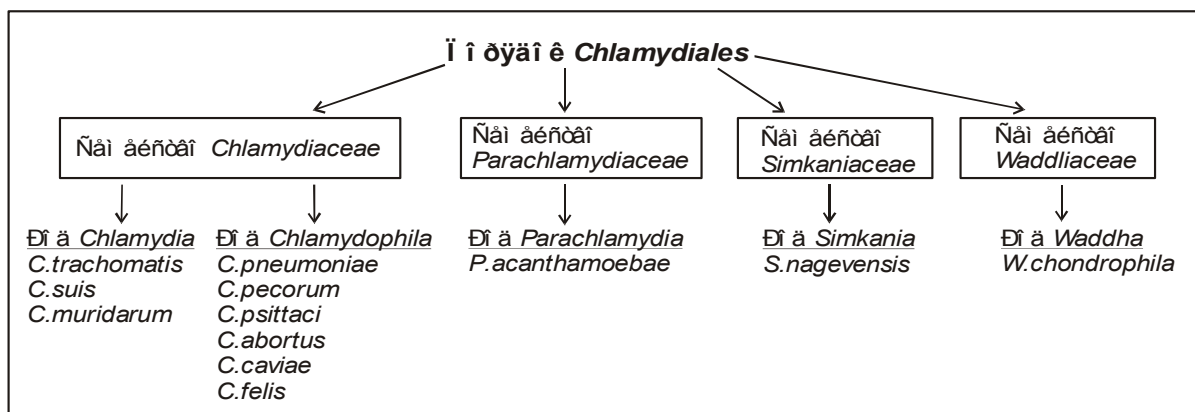


Рис.1. Новая таксономия *Chlamydiales*

Согласно современным подходам геносистематики для описания бактериальных таксонов на уровне видов, родов и семейств, классификация хламидий и хламидия-подобных микроорганизмов основана на наличии >95% гомологии в нуклеотидной последовательности генов 16S и 23S рРНК для всех представителей рода и >90% - семейства. Таким образом, ранее неклассифицированные микроорганизмы, имеющие сходный с хламидиями цикл развития, были выделены в четыре дополнительных семейства в составе порядка *Chlamydiales* – *Chlamydiaceae*, *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Waddliaceae*. Вопрос относительно того, чтобы порядок *Chlamydiales* рассматривался как класс, в настоящее время остается открытым. Это связано с небольшим количеством видов хламидий, которые включены в порядок *Chlamydiales*.

Наиболее радикальные изменения произошли в систематике семейства *Chlamydiaceae*, в котором в настоящее время выделено два рода – *Chlamydia* и *Chlamydophila*. Они отличаются между собой еще и по ряду фенотипических признаков.

Представители рода *Chlamydia* обладают сходными по структуре экстрахромо-сомными элементами. Они способны накапливать гликоген во включениях. Их ЭТ попав в клетку организма-хозяина стремятся слиться в одно общее большое включение, биологический смысл которого состоит в обмене генетической информацией, а это, в свою очередь, обуславливает большую генетическую вариабельность возбудителя. Род *Chlamydia* включает три вида: давно известный – *Chlamydia trachomatis* и два новых вида – *Chlamydia muridarum* и *Chlamydia suis*. Согласно новой классификации *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* до недавнего времени рассматривался как третий биовар *Chlamydia trachomatis*. *Chlamydia muridarum* вызывает заболевания у грызунов из семейства Muridae.

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

Представители рода *Chlamydophila* проявляют эволюционное сродство по структуре различных генов, включая гены рибосомного оперона и белков наружной мембраны (OMP и OMP 2). Род *Chlamydophila* включает в себя давно известные виды – *Chlamydophila psittaci*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila pecorum*, *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila caviae* и *Chlamydophila felis*.

Chlamydophila pecorum (прежнее название *Chlamydia pecorum*) – возбудитель заболеваний животных.

Chlamydophila pneumoniae (прежнее название *Chlamydia 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 *Chlamydophila 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 *Chlamydophila pneumoniae* с развитием атеросклероза и бронхиальной астмы.

Chlamydophila psittaci (прежнее название *Chlamydia psittaci*) до недавнего времени включал в себя 4 группы возбудителей, которые существенно отличались как генетически, так и фенотипически и вызывали заболевания у человека и животных. Согласно новой классификации вид *Chlamydophila psittaci* включает штаммы, которые способны вызывать заболевания только у птиц. Все эти штаммы могут передаваться человеку и вызывать пситтакоз. Вид *Chlamydophila psittaci* включает 8 сероваров.

Chlamydophila abortus вызывают заболевания у животных. В литературе описаны случаи спорадических абортос у женщин, работавших с овцами, вызванные *Chlamydophila abortus* – гестационный пситтакоз.

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

Chlamydophila 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.

Представители семейства *Parachlamydiaceae* хорошо растут на культуре клеток Vero, вариабельно окрашиваются по Граму, не распознаются моноклональными антителами, специфическими для антигенного комплекса ЛПС семейства

Chlamydiaceae и являются паразитами амёб. Различия в нуклеотидной последовательности генов Parachlamydiaceae и Chlamydiaceae в целом составляет 10-20%. В состав семейства входит один род, единственным представителем которого является *Parachlamydia acanhamoebae*.

В настоящее время семейство Simkaniaceae включает один род Simkana, 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 распространен у людей. *Simkania negevensis* не распознается моноклональными антителами, специфическими для антигенного комплекса ЛПС 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 генов различных хламидийных штаммов.

Фундаментальные изменения, внесенные в классификацию представителей порядка Chlamydiales должны быть, в первую очередь, учтены при диагностике хламидийной инфекции. Это связано с тем, что все виды, входящие в семейство Chlamydiaceae, обладают сходной структурой липополисахаридного антигена и распознаются моноклональными антителами, специфичными к трисахаридному фрагменту alphaKdo-(2-8)-alphaKdo-(2-4)-alphaKdo ЛПС. В связи с этим многие из них в ПИФ и серологических методах идентифицируются как *Chlamydia trachomatis*.

Основные белковые антигены, представленные на поверхности ЭТ, включая насыщенный цистеином белок мол массой 40 кД (МОМР или ОМР) и насыщенный цистеином белок мол массой 60 кД (ОМР 2), также проявляют значительное структурное сходство у различных видов семейства Chlamydiaceae. Поэтому в методах, основанных на распознавании этих антигенов так же, как и в случае с ЛПС-антигенами, все виды семейства Chlamydiaceae идентифицируются как *Chlamydia trachomatis*.

Исходя из того, что виды семейства Chlamydiaceae отличаются между собой лишь различиями в нуклеотидной последовательности некоторых генов (а именно 16S и 23 S рПНК), на чем, собственно, и основывается таксономия, становится очевидным, что правильная диагностика возбудителя хламидийной инфекции возможна лишь при использовании методов, основанных на обнаружении генома возбудителя.

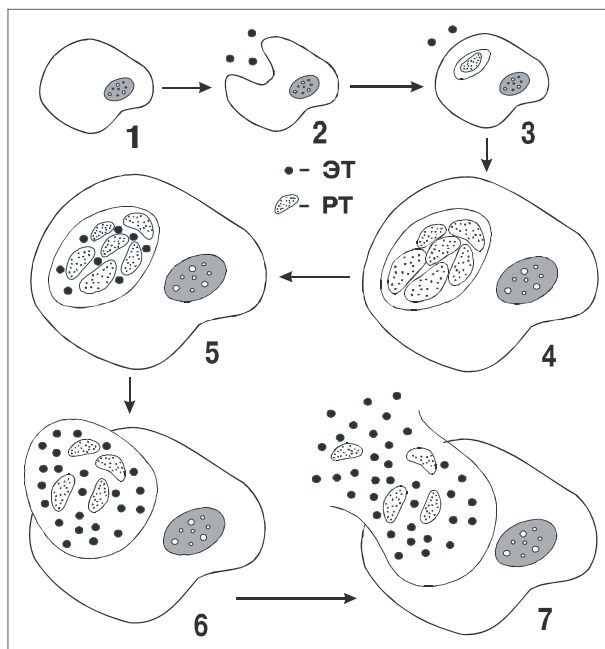
Поскольку разные виды хламидий обладают различным по длительности циклом развития и различной чувствительностью к традиционным для лечения хламидийных инфекций препаратам, неправильная диагностика возбудителя хламидийной инфекции может привести к проблемам при лечении хламидиоза.

Несмотря на то, что жизненный цикл хламидий достаточно хорошо освещен в литературе, механизмы регуляции внутриклеточного развития хламидий до сих пор остаются неизвестными. Многие исследователи полагают, что помимо уникального цикла развития, хламидии отличаются от других возбудителей еще и тем, что обладают возможностью персистировать и образовывать атипичные формы. В процессе размножения хламидий наблюдается несинхронное развитие инфекции – одновременное присутствие всех стадий цикла размножения хламидий.

Цикл развития хламидий условно можно разделить на несколько этапов (Рис 2).

Рис.2 Цикл развития *Chlamydia trachomatis*.

1. Адсорбция элементарного тельца; 2. Проникновение элементарного тельца в клетку; 3. Реорганизация элементарного тельца в ретикулярное тельце; 4. Деление ретикулярного тельца; 5. Созревание ретикулярных телец в элементарные; 6. Накопление ретикулярных телец в эндосоме; 7. Выход хламидий из клетки.



На первом этапе инфекционного процесса происходит адсорбция ЭТ хламидий на плазмалемме чувствительной клетки хозяина при участии электростатических сил. Внедрение хламидий в клетку происходит путем эндоцитоза.

Участки плазмалеммы с адсорбированными на них ЭТ инвагинируются в цитоплазму с образованием фагоцитарных вакуолей. Этот этап занимает 7-10 часов.

Далее, на втором этапе, в течение 6-8 часов происходит реорганизация инфекционных ЭТ в метаболически активные неинфекционные, вегетативные, внутриклеточные формы - РТ, способные к росту и делению. Эти внутриклеточные формы, представляющие собой микроколонии, называют хламидийными включениями - тельцами Гальберштедтера-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 ЭТ хламидий.

На следующем этапе, в течение 36-42 часов происходит процесс созревания, через переходные (промежуточные тельца), и трансформации РТ путем деления в ЭТ. ЭТ путем разрушения инфицированной клетки выходят из нее. Этим заканчивается жизненный цикл хламидий. Освободившиеся ЭТ, и находящиеся внеклеточно, через 48-72 часа снова проникают в новые клетки хозяина, и начинается новый цикл развития хламидий. В случае возникновения неблагоприятных метаболических условий этот процесс может затягиваться на более длительный период.

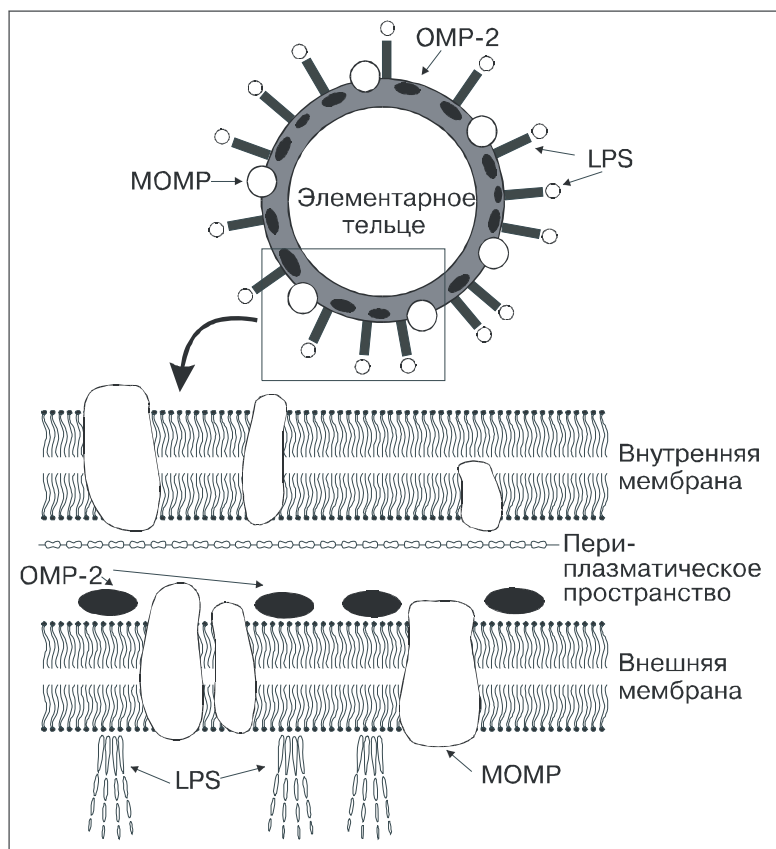
В случае бессимптомного течения хламидийной инфекции происходит высвобождение ЭТ из инфицированной клетки через узкий ободок цитоплазмы. При этом клетка может сохранять свою жизнеспособность.

Защитная реакция организма-хозяина на начальной стадии инфекции осуществляется при участии полиморфноядерных лимфоцитов. Существенную роль в защите организма играет поликлональная активация В-лимфоцитов. В сыворотке крови и секреторных жидкостях при хламидиозе обнаруживают иммуноглобулины классов IgM, IgA, IgG. Однако ведущую роль в защите от хламидийной инфекции все-таки занимают Т-хелперы, активирующие фагоцитарную активность макрофагов.

Использование методов ультраструктурного анализа позволило доказать возможность персистенции хламидий в эпителиальных клетках и фибробластах, инфицированных слизистых мембран. Хламидии поглощаются периферическими моноцитами и, таким образом, происходит их распространение по всему организму. Моноциты оседают в тканях и превращаются в тканевые макрофаги (в суставах, сосудах и в области сердца). Тканевые макрофаги могут сохранять жизнеспособность в течение нескольких месяцев. Являясь при этом антигенным стимулятором, они способствуют образованию фиброзных гранул 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.

Структура клеточной стенки хламидии соответствует общему принципу построения грамотрицательных бактерий (Рисунок 3).

Рис.3. Структура клеточной стенки *Chlamydia trachomatis*



Клеточная стенка хламидии состоит из внутренней цитоплазматической и наружной мембран, каждая из которых имеет двойную структуру. Таким образом обеспечивается прочность клеточной стенки хламидии. Антигенные свойства хламидий определяются внутренней мембраной, которая представлена липополисахаридами. В нее интегрированы так называемые белки наружной мембраны (Outer membrane proteins - OMP). 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-дезоксиктоновая кислота), который используется при диагностике заболевания иммунофлуоресцентными методами с применением специфических антител (Таблица 1).

Таблица 1 Антигены хламидий (P.A. Mardh, 1990)

Антиген	Химич.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(МOMP), протеине 30 кДа у серотипов А и В

Белки МOMP и OMP 2 содержат видо- и серотипоспецифические эпитопы. Однако в них имеются также области с высоким сходством среди видов (родоспецифические эпитопы), что обуславливает возможность появления перекрестных реакций. Основной белок клеточной мембраны и богатые цистеином другие белки связаны дисульфидными связями.

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 белков. 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 – компонент клеточной стенки, существующий как у грамположительных, так и у грамотрицательных бактерий. Но при этом, в геноме хламидий содержатся гены, кодирующие белки, которые необходимы для его полного синтеза.

Ранее, 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, секретлируемого 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.

Клиническая картина хламидийной инфекции

В настоящее время насчитывается более 20 нозологических форм, связанных с хламидийной инфекцией. Урогенитальный хламидиоз, возбудителем которого является *Chlamydia trachomatis*, имеет разнообразные клинические проявления. Особенностью течения урогенитальной хламидийной инфекции является отсутствие каких-либо специфических проявлений и отсутствие выраженной клинической симптоматики с момента инфицирования. Заболевание, как правило, протекает мало- или асимптомно, что обусловлено своеобразием биологии *Chlamydia trachomatis* - уникальностью их жизненного цикла и взаимодействия с клетками макроорганизма. Манифестные формы заболевания регистрируются только в том случае, когда имеет место ассоциированная инфекция, при этом именно ассоциант обуславливает развитие клинической картины инфекционного процесса и/или на фоне угнетения иммунного ответа со стороны макроорганизма. Поскольку с момента инфицирования заболевание протекает без субъективных клинических проявлений, то пациент, к сожалению, обращается к врачу чаще всего, на стадии осложнений.

В связи с тем, что момент инфицирования *Chlamydia trachomatis* установить практически невозможно, нужно признать, что классификация урогенитальной хламидийной инфекции на острую и хроническую формы достаточно условна.

Хорошо известно, что заболевания, передаваемые половым путем, в том числе и урогенитальный хламидиоз, редко протекают в виде моноинфекции, в большинстве случаев выделяются сопутствующие патогенные или условно-патогенные микроорганизмы, при этом в ассоциации патогенность каждого ассоцианта усиливается. Учитывая данные факты, врачу в постановке диагноза, по-видимому, следует основываться на совокупности результатов клинико-лабораторных исследований, имеющихся на момент обследования, а не на факторе времени. Особое значение имеет постановка клинического диагноза, включающего обязательное указание топике поражения и наличия осложнений. Диагноз, заключающийся в 2-х словах "урогенитальный хламидиоз" не является клиническим и не дает представление о том, какие органы мочеполовой системы вовлечены в инфекционный процесс. Своевременно и грамотно поставленный диагноз позволит врачу выбрать адекватную тактику терапии с учетом сопутствующей патологии и будет являться гарантом эффективности лечения.

Согласно международной классификации болезней (МКБ-Х) предлагается выделять следующие клинические формы урогенитального хламидиоза (УГХ):

1. УГХ органов малого таза и других отделов мочеполовой системы
 - эндометрит
 - эндомиометрит
 - сальпингит
 - оофорит
 - цистит
 - эпидидимит
 - орхит
 - орхоэпидидимит
 - простатит
 - везикулит
2. Экстрагенитальная хламидийная инфекция
 - пневмония
 - конъюнктивит
 - фарингит
 - назофарингит
 - артрит
 - перигепатит
 - хламидийная инфекция аноректальной области.

Пути распространения хламидийной инфекции в организме больного разнообразны, но все они могут реализоваться только при условии несостоятельности защитно-биологических барьеров организма. Варианты распространения инфекции следующие:

1. каналикулярно
2. лимфогенно
3. гематогенно
4. с участием сперматозоидов
5. внутриматочные вмешательства с лечебной или диагностической целью.

В любом варианте возможно развитие осложненной формы урогенитальной инфекции с вовлечением в воспалительный процесс органов малого таза. Хронические вялотекущие процессы на уровне матки и/или придатков могут, в свою очередь, привести к еще более серьезным осложнениям, таким как бесплодие, внематочная беременность, привычные выкидыши на ранних сроках.

При учете клинических данных у больных с урогенитальной инфекцией необходимо обращать внимание на анамнестические данные: начало болезни, субъективные и объективные симптомы, боль, бели, кровотечения, самопроизвольные аборт, бесплодие, динамику развития симптомов. Также следует учитывать и эпидемиологические данные: возможность наличия случайных половых связей, перенесенные в прошлом инфекционные заболевания урогенитального тракта (цервицит, уретрит, цистит и т.д.), заболевания суставов, глаз и т.д. С диагностической целью должны быть исключены все возможные бактериальные и вирусные инфекции, а также инфекции вызванные простейшими имеющие сходную клиническую картину заболевания с хламидийной инфекцией и с целью исключения смешанной инфекции.

При исследовании микроэкологии влагалища у женщин с урогенитальной инфекцией, в том числе и с хламидийной, наблюдаются ее нарушения (бактериальный Вагиноз). Бактериальный Вагиноз всегда сопровождается резким снижением количества или полным отсутствием лактобактерий. На фоне количественных изменений лактофлоры происходит увеличение количества условно-патогенных анаэробных бактерий (бактероидов, пептострептококков,

пептококков) и/или *G.vaginalis*. Нарушение микроэкологии влагалища может сопровождаться увеличением количества факультативно-анаэробной условнопатогенной микрофлоры (*E.coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и т.д.).

Кроме того, во время обследования пациентов с урогенитальной инфекцией, являющейся преимущественно локальным заболеванием, необходимо учитывать и тот факт, что у них, как правило, всегда отсутствуют повышение температуры, изменения в моче и крови (общий лейкоцитоз, СОЭ, показатель гемоглобина, количество эритроцитов), а жалобы носят неспецифический характер.

Клинические проявления урогенитальной хламидийной инфекции у женщин

По топографии у женщин можно выделить хламидийное поражение нижнего отдела урогенитального тракта и восходящую инфекцию. К поражениям нижнего отдела следует отнести хламидийный уретрит, парауретрит, бартолинит, кольпит, эндоцервicit.

Наибольшее диагностическое значение из клинических симптомов имеют изменения слизистых оболочек шейки матки и уретры, слизистые или слизисто-гнойные выделения, состояние придатков матки и самой матки.

Из специальных клинических методов исследования при диагностике урогенитальной инфекции у женщин выделяют кольпоскопию. В то же время до сих пор не обнаружены патогномичные кольпоскопические признаки хламидиоза, и, по мнению некоторых авторов, поиск их бесперспективен. Тем не менее, некоторые авторы считают, что кольпоскопическая картина хламидийных цервицитов, в отличие от таковой при цервицитах другого микробного происхождения, отличается особым характером вакуолизации эпителия, отеком и набуханием слизистой оболочки, а также относительной вялостью течения воспалительного процесса.

При кольпоскопии на слизистой оболочке шейки матки, помимо отечности и гиперемии, могут определяться папулообразные выпячивания слизистой оболочки, содержащие серовато-белое отделяемое, которые чаще всего располагаются на передней губе шейки матки. Нередко эти папулы достигают размера просяного зерна, а в отдельных случаях и размера фасоли. В подслизистой ткани определяется резкое усиление сосудистого рисунка. Цилиндрический эпителий у входа в цервикальный канал находится в состоянии отека с элементами начала гиперплазии.

Цервицит наблюдается как первичное и наиболее частое проявление хламидийной инфекции.

Эндоцервикальный канал выстлан однослойным цилиндрическим эпителием. Крипты эндоцервикального канала вырабатывают секрет, который защелачивает среду в просвете канала и, тем самым, создаются оптимальные условия для жизнедеятельности хламидий и любых других инфекционных агентов. Хламидийный эндоцервицит диагностируется у 12-60% женщин с ЗППП и у 9-48% женщин с гинекологическими заболеваниями. Только у трети женщин наблюдаются клинические признаки инфекции. Выделение хламидий из цервикального канала шейки матки в 84% случаев сопровождается появлением слизистых выделений. При наличии смешанной инфекции выделения приобретают мутно-слизистый или слизисто-гнойный характер.

Поражение экзоцервикса слизистой оболочки, преддверия и влагалища хламидиями нехарактерно. Влагалище и влагалищная порция шейки матки в норме имеют слабокислую реакцию среды, выстланы функционально активным многослойным плоским эпителием, который хорошо защищен от внедрения инфекционных агентов. В то же время, физиологические или патологические изменения многослойного плоского эпителия, приводящие к снижению его защитных свойств – детский возраст, беременность, менопауза, патологическая гипо- или гиперэстрогения, смешанная инфекция и др., могут явиться причиной его инфицирования.

Заслуживают внимания результаты исследований, в которых установлена связь хламидийной инфекции с предраковыми заболеваниями шейки матки. Значимость изучения корреляционных связей хламидийной инфекции и диспластических поражений шейки матки не вызывает сомнений в силу того, что наиболее часто эктопия шейки матки отмечается у молодых женщин до 24 лет, которые соответственно подвержены самому высокому риску инфицирования хламидиями, а значит составляют группу риска по онкологическим заболеваниям. Решение вопроса о роли хламидий и других возбудителей ЗППП в патологии шейки матки является весьма актуальным в практике венерологов и гинекологов.

Хламидийный уретрит, как и цервицит, начинается после относительно продолжительной инкубации, в среднем через 21 день, и чаще всего сопровождается незначительными субъективными расстройствами. По внешним проявлениям и клинической симптоматике хламидийным уретритам свойственно появление “утренней капли”. При вовлечении в воспалительный процесс парауретральных желез могут отмечаться гиперемия их устьев и появление слизистых и гнойно-слизистых выделений после массажа.

По литературным данным трудно судить о частоте хламидийных уретритов, которые, как правило, протекают бессимптомно и сопровождаются только повышением числа лейкоцитов в соскобах из уретры и легкой дизурией. Тем не менее, при таких уретритах у больных удавалось изолировать хламидии. В связи с этим, ряд авторов считает, что при обнаружении в поле зрения более 10 лейкоцитов (в мазках, окрашенных по Граму) и отсутствии другой патогенной флоры можно предположить диагноз хламидийного уретрита.

При уретритах возможно развитие эндоуретральных остроконечных кондилом, в которых могут определяться хламидии. Нередко хламидии обитают в парауретральных ходах и криптах, являющихся “неконтролируемыми депо” хламидийной инфекции. Это является причиной ее атяжного течения, рецидивов и распространения.

Вовлечение мочевого пузыря (**цистит**) в воспалительный процесс сопровождается неопределенными тянущими болями внизу живота, позывами на мочеиспускание или учащенным мочеиспусканием. Специфических уретроцистоскопических признаков хламидийной инфекции нет. Определяются типичные для любого воспаления явления мягкого инфильтрата, перигландулярные инфильтраты, отечность и инфильтрация слизистой оболочки треугольника мочевого пузыря.

Первичный **хламидийный кольпит** встречается редко, так как хламидии не способны размножаться в многослойном плоском эпителии, а вне клетки высокочувствительны к кислой реакции влагалища. Первичные кольпиты возможны только при патологическом изменении гормонального фона у пожилых женщин, беременных и девочек.

Вульвит хламидийной этиологии сопровождается поражением мочеиспускательного канала и/или клитора. Субъективные ощущения чаще всего сводятся к чувству зуда и/или жжения в области половых органов.

На фоне слабо выраженной клинической симптоматики бартолинита, при проведении легкого массажа, могут наблюдаться выделения из выводного протока железы в скудном или умеренном количестве. При вовлечении в инфекционный процесс выводных протоков бартолиниевых желез больные могут жаловаться на появление зуда, а затем и боли в области наружных половых органов. При стойком закрытии выводного протока с одной или обеих сторон возникает кистозное образование, наполненное секретом бартолиниевой железы.

Хламидийные вагиниты могут развиваться как у женщин, так и у девочек. Частые обострения хронического цервицита могут способствовать возникновению вторичного вагинита, в результате мацерирующего действия свободно стекающих выделений из цервикального канала шейки матки на эпителий влагалища.

Генерализации процесса из нижних отделов генитального тракта способствуют аборт, операции, в том числе экстрагенитальные.

Восходящая хламидийная инфекция распространяется:

- а) каналикулярно, то есть через цервикальный канал, полость матки, маточные трубы на брюшину и органы брюшной полости;
- б) лимфогенно - по лимфатическим капиллярам;
- в) гематогенно - о чем свидетельствуют экстрагенитальные поражения (глотка, суставные сумки);
- г) в распространении хламидий могут участвовать сперматозоиды;

Термин "восходящая хламидийная инфекция" относится к поражению слизистой оболочки матки, труб, яичников, околоматочных связок, брюшины, печени. Хламидийный сальпингит - наиболее частое проявление этой инфекции. Особенностью таких сальпингитов является их длительное, подострое, стертое течение без склонности к "утяжелению" с отсутствием выраженного (I-II степени) спаечного процесса в области органов малого таза.

При морфологическом исследовании маточных труб было показано, что при хламидийных сальпингитах в первую очередь поражается слизистая оболочка. Складки труб набухают, нарушается целостность эпителия, появляется ригидность труб, нарушается их правильная перистальтика. В результате происходит уплотнение их стенок, края трубных складок слипаются, приводя к облитерации. Наиболее опасным осложнением является бесплодие. Частота возникновения бесплодия находится в прямой зависимости от длительности, кратности обострений тазовых воспалительных заболеваний.

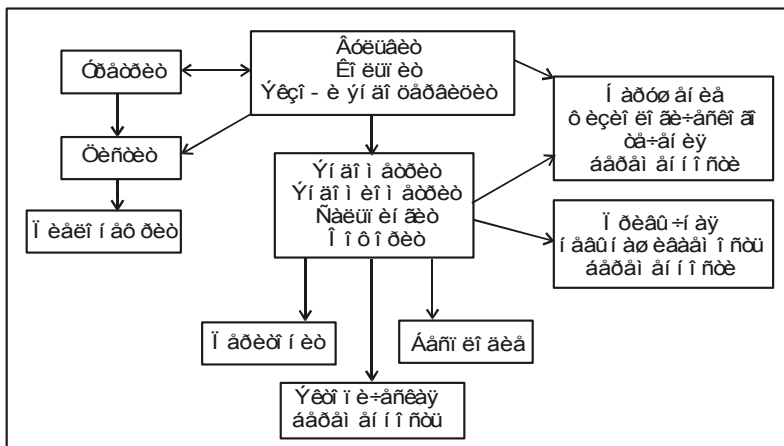
При лапароскопическом исследовании выявлено, что маточные трубы у пациенток, страдающих хламидиозом, непроходимы в 71% случаев в интерстициальном отделе в отличие от женщин с банальным воспалительным процессом, у которых в 53% случаев трубы непроходимы в ампулярных отделах. При анализе спаечного процесса в области малого таза выявлено, что более выраженный спаечный процесс (III-IV степени) чаще встречается у пациенток с банальным воспалительным процессом (28%), в то время как у больных, страдающих хламидиозом, преобладает I-II степени выраженности спаечного процесса.

Таким образом, хламидии преимущественно поражают слизистую оболочку маточных труб, вызывают их облитерацию преимущественно в интерстициальном отделе. В связи с этим представляется важным исследование на хламидии содержимого маточных труб и перитонеальной жидкости, полученных при лапароскопии.

У женщин с восходящей хламидийной инфекцией при воспалительных заболеваниях органов малого таза может развиваться перигепатит-синдром Fitz-Hugh-Curtis, а также периспленит, перигепатит и др. Они характеризуются повышением температуры тела, болями в области печени, органов малого таза.

У больных с трубным бесплодием хламидийной этиологии клинические проявления скудные. Основная жалоба - бесплодие (первичное или вторичное), боли в низу живота и усиление белей перед менструацией (жидкие бели без запаха, обычно за 4-5 дней до менструации, 3-4 раза в год с интервалом в 3-4 месяца), у 70%-психозомоциональные расстройства: нарушения сна, головная боль, раздражительность (Таблица 2).

Таблица 2 Осложнения урогенитального хламидиоза нижних отделов мочеполовой системы женщин



Наибольшее внимания заслуживает вопрос, касающийся установления этиологического диагноза эндометрита, сальпингита и редко сальпингоофорита. Проблема заключается в том, что в большинстве случаев клиницист устанавливает диагноз эндометрита или сальпингита хламидийной этиологии на основании клинико-анамнестических данных и обнаружения возбудителя в отделяемом из цервикального канала. С таким подходом к установлению этиологического фактора воспаления органов малого таза нельзя согласиться. Более 10 лет назад отечественными и зарубежными учеными получены интересные данные о том, что даже в момент обострения, например, сальпингита микробная флора шейки матки и маточной трубы не идентична. Хламидийная этиология эндометрита или сальпингита может быть установлена только после выделения *Chlamydia trachomatis* непосредственно из отделяемого матки или маточной трубы.

Клинические проявления урогенитальной хламидийной инфекции у мужчин

У мужчин хламидийная инфекция редко бывает субклинической. Как правило, она обычно протекает в виде легкого негонекоккового “неспецифического” воспаления мочеиспускательного канала, продолжающегося несколько месяцев. В ряде случаев симптомы заболевания могут появляться поздно (через 3-4 недели после заражения) и бывают выражены нерезко. При остром воспалении клиническая картина мало отличается от гонкоккового заболевания. При хроническом процессе клинические проявления зависят от степени вовлечения в воспалительный процесс мочеполовой системы. Так, наряду с уретритом (передним или тотальным) с различной частотой могут отмечаться простатит, везикулит, орхоэпидидимит, фуникулит. Так как перенесенная хламидийная инфекция не вызывает стойкого иммунитета, возможны реинфекции, которые довольно часты в тех случаях, если лечится только один из сексуальных партнеров и продолжают незащищенные половые контакты.

При хроническом хламидийном уретрите у мужчин чаще всего встречается мягкий инфильтрат переднего и заднего отделов уретры и колликулит (75,7% случаев).

У мужчин, страдающих хламидиозом мочеполовой системы, может нарушаться репродуктивная функция в виде нарушения сперматогенеза - олигоспермия I и II степени в 18% случаев, выраженная астеноспермия в 20% случаев, а в 16,1% - даже тератоспермия.

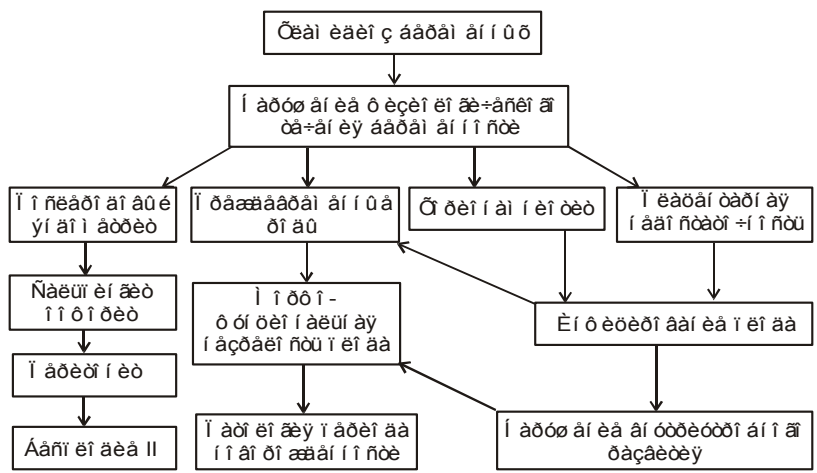
Острый хламидийный уретрит наблюдается только у 4% мужчин, в то время как у 25% он протекает подостро и у 74% - торпидно, малосимптомно. Не исключается возможность, что при урогенитальной хламидийной инфекции может произойти генерализация процесса с вовлечением соседних органов. Так, если при гонорее осложнения возникают у 0,4% больных, то при хламидийном уретрите частота осложнений достигает 9% случаев. Уретриты нередко способствуют развитию экстрагенитальных осложнений – конъюнктивитов, полиартритов, полирадикулоневритов и т.д.

Таким образом, клиническая характеристика хламидийных урогенитальных заболеваний у мужчин проявляется большим многообразием. При остром воспалении клиническая картина практически ни чем не отличается от клинической картины гонорреи. При хроническом процессе клинические проявления зависят от степени вовлечения в воспалительный процесс мочеполовой системы.

Особенности хламидийной инфекции у детей

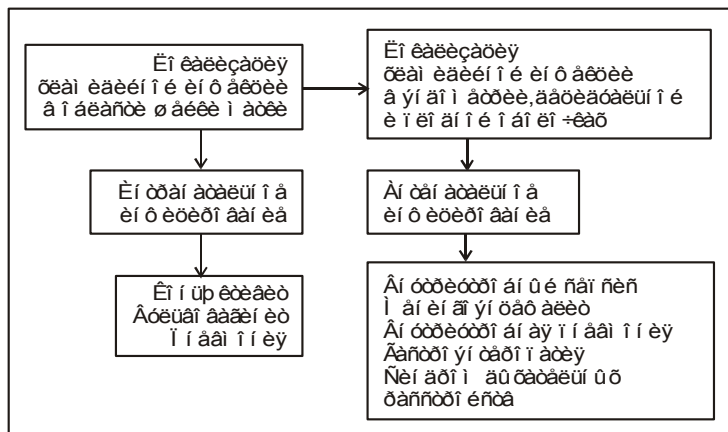
Инфицирование беременной женщины или плода *Chlamydia trachomatis* представляют опасность, как для матери, так и для плода. К ним относятся: нарушение физиологического течения беременности, преждевременные роды, послеродовые осложнения, патология плода (Таблица 4).

Таблица 4 Осложнения хламидийной инфекции во время беременности



Новорожденные могут инфицироваться двумя путями. Чаще всего инфицирование новорожденных происходит интранатально, т.е. во время прохождения через инфицированные *Chlamydia trachomatis* родовые пути матери. Второй путь заражения плода – антенатальный (внутриутробный) (Таблица 5).

Таблица 5 Инфицирование плода и новорожденных Семейный и экстрагенитальный хламидиоз



В этом случае хламидийная инфекция в раннем неонатальном периоде жизни ребенка протекает с тяжелыми клиническими проявлениями, поскольку в воспалительный процесс могут быть вовлечены все функциональные системы новорожденного. Различают следующие клинические формы хламидиоза новорожденных:

1. внутриутробный сепсис
2. менингоэнцефалит
3. внутриутробная пневмония
4. гастроэнтеропатия
5. синдром дыхательных расстройств
6. конъюнктивит
7. вульвовагинит.

Заболевание глаз у новорожденных появляется в результате передачи *Chlamydia trachomatis* из генитального тракта, главным образом из шейки матки, в глаза ребенка во время родов при прохождении через половые пути матери с урогенитальным хламидиозом. Инкубационный период обычно составляет 7-9 дней. Выделения из глаз, как правило, бывают обильными и в начале заболевания, главным образом, состоят из нейтрофилов. В более поздние сроки заболевания в экссудате появляется большое количество мононуклеарных клеток, но нейтрофилы всегда присутствуют в большом количестве. Цитоплазматические включения в эпителиальных клетках определяются в больших количествах в начале заболевания. Однако, в дальнейшем их бывает трудно обнаружить. Они всегда определяются в обильном количестве в соскобах с конъюнктивы нижнего хряща и свода, чем в соскобах конъюнктивы верхнего хряща или свода. Фолликулярная гиперстрофия всегда бывает более выражена в конъюктиве нижнего века, чем верхнего. Роговица у новорожденного не поражается.

По данным различных исследователей в смывах из носоглотки и с конъюнктивы, взятых у новорожденных и грудных детей с симптомами респираторных инфекционных заболеваний и дыхательной недостаточности, хламидии выявляются в 30% случаев. Известно, что наличие в семье лиц старшего поколения, инфицированных хламидиями (блефароконъюнктивиты, урогенитальная патология), представляет угрозу инфицирования для остальных членов семьи. Введение термина "семейный хламидиоз" обусловлено результатами обследования семей, в которых были выявлены хламидийные поражения в двух - трех поколениях. В ряде исследований было показано, что в семьях, где родители больны урогенитальным хламидиозом около 30-35% детей также поражены этим заболеванием, причем нередко (до 7%) — это экстрагенитальные формы, которые чаще всего протекают в виде вялотекущего конъюнктивита или блефароконъюнктивита.

Из других форм экстрагенитального хламидиоза внимание клиницистов привлекает синдром Рейтера. Он характеризуется триадой признаков: поражением мочеполовых органов, чаще всего уретрит (простатит), заболеванием глаз (конъюнктивит) и суставов (артрит).

Болезнь протекает с ремиссиями и повторными атаками. Хламидийная этиология заболевания подтверждается выявлением хламидий в 40-60% случаев в урогенитальном тракте и положительными серологическими реакциями в 60-80% случаев.

При синдроме Рейтера симптомы возникают последовательно. Вначале появляется уретрит, затем конъюнктивит. В некоторых случаях они могут возникать одновременно.

Заболевание глаз проявляется в виде слабо выраженного двустороннего конъюнктивита. Иногда конъюнктивит может сопровождаться эписклеритом или кератитом. В редких случаях конъюнктивит сочетается с иридоциклитом или задним увеитом.

Уретрит редко бывает острым, чаще наблюдается подострое или инapparантное течение со скудными выделениями и субъективными ощущениями. Длительность уретрита колеблется от нескольких месяцев до нескольких лет и, как правило, сопровождается простатитом. Хламидии могут быть выделены из уретры и секрета простаты. Хламидийный простатит характеризуется упорным течением и часто отсутствием симптомов. Синдром Рейтера может сопровождаться эпидидимитом, куперитом, циститом, пиелонефритом хламидийной этиологии.

Суставы поражаются не одновременно, а последовательно. Для синдрома Рейтера характерны множественные артриты. Моноартриты являются редкостью. Артриты начинаются остро или подостро, сопровождаются болезненностью, припухлостью тканей, ограничением подвижности сустава, лихорадкой.

Наличие экстрагенитальных очагов поражения у больных урогенитальным хламидиозом является одной из причин неудачного лечения.

Диагностика хламидиоза

Современные методы диагностики значительно расширили возможность распознавания многих заболеваний, в том числе и хламидийной инфекции. Развитие и усовершенствование этих методов углубили и расширили наши представления об эпидемиологии хламидиоза, сыграли большую роль в изучении его патогенеза.

При лабораторной диагностике хламидийной инфекции необходимо учитывать тот факт, что воспалительные процессы в урогенитальном тракте могут быть обусловлены не только различными видами патогенных (*N.gonorrhoeae*, *T.vaginalis*, *M.gominis* и т.д.), но и условно-патогенных капнофильных микроорганизмов (*U.urealyticum*), которые протекают с одинаковыми клиническими проявлениями. Также необходимо учитывать, что этиологическим агентом воспалительных процессов в урогенитальном тракте могут быть представители условнопатогенной факультативно-анаэробной микрофлоры (*E.coli*, *S.aureus*, *S.fecium*, *S.fecalis* и т.д.), значение которых не вызывает сомнений, когда у больных с цервицитами и уретритами эти микроорганизмы выделяются в большом количестве в виде монокультуры.

Частота обнаружения хламидий во многом зависит от правильности взятия материала, его доставки в лабораторию на исследование, кратности исследований, клинической формы и давности хламидийной инфекции.

Контингенты лиц, которые подлежат исследованию на хламидиоз согласно рекомендациям ВОЗ

1. Хронические воспалительные заболевания мочеполовой системы
2. Акушерско-гинекологическая патология
3. Беременность
4. Псевдоэрозия шейки матки и др.
5. Реактивный артрит
6. Хронический конъюнктивит
7. Атипичная пневмония
8. Лихорадка неясного генеза
9. Нарушения менструального цикла
10. Самопроизвольные и искусственные аборты
11. Лечебные и диагностические выскабливания слизистой оболочки шейки матки и тела матки
12. Введение и удаление внутриматочных контрацептивов и другие внутриматочные вмешательства
13. Хронический цистит
14. Новорожденные при наличии диагностированной хламидийной инфекции у матери
15. Патология периода новорожденности
16. Наличие ИППП
17. Половые контакты с лицами, инфицированными хламидиями
18. Частая смена половых партнеров
19. Декретированный контингент

В связи с тем, что для хламидиоза характерно малосимптомное и латентное течение, а также возможны смешанные инфекции - сочетание хламидий с другими возбудителями генитальных инфекций, ведущим при лабораторной диагностике хламидийной инфекции становится комплексный подход.

Техника взятия материала для исследования

Одним из самых ответственных этапов диагностики хламидиоза является взятие и доставка биологического материала на исследование. Именно этот этап проводится в лечебных учреждениях различного профиля, в то время как дальнейшая обработка материала осуществляется в специализированных лабораториях.

Материал для исследования

Для цитологического и иммуноцитологического методов исследования - соскоб из уретры или цервикального канала, соскоб с конъюнктивы глаз. У новорожденных в качестве материала для исследования используют соскоб с конъюнктивы глаз. У девочек в качестве материала для исследования используют соскоб из вульвы.

Для ПЦР - соскоб из уретры или цервикального канала, секрет предстательной железы, осадок мочи, соскоб с конъюнктивы глаз. У новорожденных в качестве материала для исследования используют соскоб с конъюнктивы и задней стенки глотки. У девочек в качестве материала для исследования используют соскоб из вульвы, у мальчиков мочу.

Для ИФА исследования (определение бактериальных антигенов) - соскоб из уретры или цервикального канала, соскоб с конъюнктивы глаз. У девочек в качестве материала для исследования используют соскоб из вульвы. У новорожденных в качестве материала для исследования используют соскоб с конъюнктивы глаз.

Подготовка пациента, взятие биологического материала и условия его транспортировки

При проведении **цитологического, иммуноцитологического и ИФА** (определение бактериального антигена) исследований необходимо прекратить прием химиопрепаратов и лечебные процедуры за 10 дней до взятия материала на исследование.

ПЦР или микробиологическое исследование рекомендуется проводить не ранее чем через 1 месяц после последнего приема антибактериальных препаратов.

В связи с тем, что *Clamidia trachomatis* является внутриклеточным паразитом и размножается только внутри клеток

цилиндрического эпителия уретры или цервикального канала для получения адекватного результата необходимо, чтобы в исследуемом материале присутствовало возможно большее количество эпителиальных клеток и минимальное количество слизи и примеси крови. Присутствие в исследуемом материале большого количества слизи и примеси крови могут привести как к ложноположительным, так и ложноотрицательным результатам.

Особенности взятия материала из уретры

- перед взятием материала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5-2 часов;
- непосредственно перед взятием материала наружное отверстие уретры необходимо обработать тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором;
- при наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15-20 мин после мочеиспускания, при отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия материала;
- у женщин перед введением зонда в уретру проводится ее массаж о лобковое сочленение;
- в уретру у женщин зонд вводится на глубину 1,0-1,5 см, у мужчин – на 3-4 см и затем делается несколько вращательных движений; у детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры;

Особенности взятия материала из цервикального канала

- перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором;
- зонд вводится в цервикальный канал на глубину 0,5-1,5 см;
- при наличии эрозий цервикального канала необходимо их обработать стерильным физиологическим раствором; материал следует брать на границе здоровой и измененной ткани;
- при извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание со стенками влагалища;

Особенности взятия секрета предстательной железы

Перед взятием секрета простаты головка полового члена обрабатывается стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором. Секрет простаты берется после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке. Затем из кавернозной части выдавливается простатитический секрет, который собирается в стерильную емкость (сосуды с широким горлом, пробирки).

Особенности взятия (сбора) мочи

Мочу собирают утром натощак после сна или не ранее чем через 2-3 часа после последнего мочеиспускания.

При сборе мочи желательно использовать широкий сосуд с крышкой, по возможности собирать мочу сразу в посуду, в которой она будет доставлена в лабораторию. Минимальный объем мочи необходимый для проведения анализа составляет 20 мл.

Если в лабораторию доставляется не вся собранная моча, то перед тем как часть мочи сливается в посуду для транспортировки, ее необходимо тщательно взболтать.

Особенности взятия материала с задней стенки глотки

Одноразовый зонд вводят за мягкое небо в носоглотку и проводят по задней стенке глотки.

После взятия материала зонд опускается в пробирку со специальной транспортной средой. После внесения зонда в транспортную среду он несколько раз ротируется, а затем удаляется из пробирки. Пробирка закрывается и маркируется.

Особенности взятия материала с конъюнктивы глаз

При наличии обильного гнойного отделяемого его убирают стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором. Соскоб берут с внутренней поверхности нижнего века движением к внутреннему углу глазной щели. При взятии соскоба необходимо придерживать веко руками, чтобы при моргании ресницы не касались зонда.

Для цитологического и иммуноцитологического исследований соскобный материал распределяется на предметном стекле, высушивается на воздухе или фиксируется в этиловом (винном) спирте 96⁰ или ацетоне. Стекла до момента отправки в лабораторию хранятся при температуре +4⁰С- +8⁰С.

После взятия соскобного материала **для ПЦР исследования** зонд опускается в пробирку со специальной транспортной средой. После внесения зонда в транспортную среду он несколько раз ротируется, а затем удаляется из пробирки. Пробирка закрывается и маркируется. Если время транспортировки биологического материала с момента его взятия до момента доставки в лабораторию составляет более 2-х часов, то пробирку необходимо заморозить при – 20⁰С. Транспортировка соскобного материала должна производиться только в сумке-холодильнике. В замороженном виде соскобный материал может храниться не более 2-х недель.

Секрет простаты должен быть доставлен в лабораторию в течение 1-3 часов. Транспортировка его должна производиться только в сумке-холодильнике.

Мочу доставляют в лабораторию в течение 1-3 часов без дополнительного охлаждения. Длительное хранение мочи при комнатной температуре до исследования приводит к изменению не только ее физических свойств и к разрушению клеток, но и к размножению бактерий.

После взятия соскобного материала **для ИФА-исследования** зонд опускается в пробирку со специальной транспортной средой, которая до момента отправки в лабораторию хранится при +4⁰С - +8⁰С. Если время транспортировки соскобного материала с момента его взятия до момента доставки в лабораторию составляет более 2-х часов, то пробирку необходимо заморозить при -20⁰С.

Взятие, условия хранения и доставки материала для проведения ИФА исследования (определение антител к *Chlamydia trachomatis*)

Материал для исследования

Исследованию подлежит сыворотка крови, не содержащая примеси эритроцитов, бактериальной контаминации, хилеза и гемолиза. При наличии любого из указанных признаков сыворотка уничтожается и назначается повторный забор крови.

Взятие крови проводится утром натощак.

Если взятие крови проводится в непосредственной близости от ИФА-лаборатории, то сразу же после ее взятия пробирка с кровью немедленно доставляется в лабораторию на исследование.

При необходимости транспортировки из крови получают сыворотку. Для этого кровь центрифугируют. После центрифугирования отделяют сыворотку от сгустка и клеток крови и помещают ее в холодильник при +4⁰С - +8⁰С или замораживают при -20⁰С.

Сыворотка крови направляется в ИФА-лабораторию в количестве не менее 1,5 мл в закрытой небьющейся пробирке, в специальном контейнере (термос со льдом или сумка-холодильник). При исследовании сыворотки на несколько показателей, она должна быть отобрана в стерильную пробирку не менее 0,5 мл на каждый маркер или тип антител.

Взятие, доставка и хранение биологического материала для проведения микробиологического исследования

Исследуемый материал соскоб из уретры, секрет простаты (у мужчин), соскобы из уретры, шейки матки (у женщин), соскоб с конъюнктивы глаза.

За 1 месяц до проведения микробиологического исследования на *Chlamydia trachomatis* пациенты должны исключить прием антибактериальных препаратов.

Для взятия биологического материала применяют зонды, прилагаемые к пробирке с транспортной средой.

У женщин взятие биологического материала лучше всего проводить не ранее чем через 14 дней после менструации. Перед взятием материала пациентам рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5-2 часов. При наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15-20 мин после мочеиспускания. При отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия материала.

При обследовании женщин материал из уретры берут с помощью одноразового стерильного зонда. Уретру массируют пальцем со стороны влагалища, прижимая ее со стороны лобковой кости. Зонд вводится на глубину 1,5-2 см и легким покашливанием передней и боковых стенок уретры получают биологический материал. Немедленно после взятия зонд опускается в пробирку с специальной транспортной средой.

Взятие материала из цервикального канала шейки матки производится только после того, как шейку матки открывают при помощи зеркал. После того, как шейка матки открыта в зеркалах, влагалищная часть ее протирается сухим ватным тампоном. Материал должен быть взят зондом. Зонд вводят в цервикальный канал на 1-1,5 см, осторожно поворачивая, вынимают, не прикасаясь к стенкам влагалища. После взятия биологического материала зонд помещают в транспортную среду.

У мужчин исследование проводится утром до мочеиспускания или пациентам рекомендуется не мочиться в течение 4-5 часов до взятия пробы.

Для получения материала при соскобе со слизистой уретры дистальная часть полового члена берется между третьим и четвертым пальцами левой руки, указательным и большим пальцами той же руки раздвигаются губки наружного отверстия уретры. Стерильный одноразовый зонд вводят в уретру на глубину 3-4 см. и производят соскоб со слизистой уретры. При очень скудных выделениях пациентам можно провести легкий массаж мочеиспускательного канала, а затем производить взятие материала. При обильных гнойных выделениях взятие материала рекомендуется производить после мочеиспускания. Соскоб с поверхности уретры берут бескровно, так как наличие крови в мазке влияет на выделение чистой культуры *Chlamydia trachomatis*. Полученный материал переносится в специальные транспортные среды.

Секрет предстательной железы берут после соответствующей обработки головки полового члена посредством массажа через прямую кишку. Врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке. Затем из кавернозной части выдавливается простатический секрет, который собирается в стерильную пробирку.

После взятия материала пробирки с транспортной средой могут храниться в холодильнике (не замораживать) при температуре +4⁰С- +8⁰С в течение 48 часов.

Методы лабораторной диагностики хламидийной инфекции

Ни один из современных методов диагностики хламидийной инфекции не обеспечивает выявление возбудителя в 100% случаев. Поэтому лабораторная диагностика хламидийной инфекции, как правило, должна включать в себя сочетание не менее двух методов (прямых или непрямых). 1. **Методы прямого выявления *Chlamydia trachomatis*:**

- микробиологическое исследование – выделение чистой культуры возбудителя;
- цитологическое исследование мазков, окрашенных по методу Романовского-Гимза;
- иммуноцитологическое исследование – выявление антигенов возбудителя в мазках с помощью специфических антител (реакция прямой иммунофлуоресценции – ПИФ), ДНК-зонды;
- определение бактериальных антигенов (иммуноферментный анализ - ИФА);
- методы экспресс-диагностики хламидий (иммунохроматография и ферментспецифическая реакция);
- молекулярно-биологические методы – определение специфического участка ДНК/РНК в геноме возбудителя (полимеразная цепная реакция – ПЦР);

2. **Непрямые методы выявления *Chlamydia trachomatis*,** косвенно указывающие на наличие возбудителя у пациента:

- серологическое исследование – определение специфических антител, образовавшихся в процессе иммунного ответа на микроорганизм (реакция связывания комплемента – РСК, реакция непрямой иммунофлуоресценции – РНИФ, иммуноферментный анализ ИФА, реакция микро-иммунофлуоресценции – МИФ, рекомбинантный липополисахаридный ИФА – r-ELISA).

Методы прямого выявления *Chlamydia trachomatis*

Микробиологическое исследование

Наиболее чувствительным, но, вместе с тем, трудоемким методом лабораторной диагностики хламидийной инфекции является микробиологическое исследование. Для размножения *in vitro* патогенов (*Chlamydia spp.*) чаще всего используют клетки линии HeLa или McCoу. Продолжительность микробиологического исследования в среднем составляет 4-7 дней. Этот метод исследования один из самых высокоспецифичных. Чувствительность микробиологического метода во многом зависит от правильности взятия и доставки биологического материала на исследование, качества питательных сред, строгого соблюдения правил культивирования, квалификации врачей-микробиологов и т.д. Несоблюдение техники взятия биологического материала на исследование, условий транспортировки и культивирования могут привести к получению ложноотрицательных результатов.

Выделение хламидий в культуре клеток McCoу

Для этой цели обычно используют чувствительную культуру клеток, обработанную циклогексимидом. Чувствительность микробиологического метода по сравнению с ПЦР составляет 70-80%, но в то же время микробиологический метод исследования превосходит молекулярно-биологические методы диагностики по специфичности. В литературе описаны случаи выявления *Chlamydia trachomatis* методом ПЦР при отрицательных результатах микробиологического исследования и наоборот.

Показаниями для диагностики хламидийной инфекции этим методом являются:

- Беременность с отягощенным акушерским анамнезом.
- Оценка эффективности проведенного антибактериального лечения.
- Выявление чувствительности и резистентности к антибактериальным препаратам.
- Выявление хламидий у ВИЧ-инфицированных или лиц с вторичными иммунодефицитными состояниями (онкологические больные после проведенных курсов лучевой и химиотерапии, трансплантации костного мозга; лица, получающие иммунодепрессанты; больные вирусным гепатитом и туберкулезом).
- Бесплодие неясного генеза.
- Установление этиологии хронического инфекционного процесса урогенитального тракта.

Микробиологический метод исследования является референс-методом при оценке эффективности антибактериального лечения. При исследовании биологического материала методом ПЦР после курса антибиотикотерапии, если оно проводится ранее, чем через месяц после ее окончания, можно получить ложноположительные результаты. Это связано с тем, что невозможно однозначно оценить жизнеспособность микробной клетки на основании выявления фрагмента ее генома, используя только данные молекулярно-биологических методов. В этом случае при исследовании клинического материала с помощью микробиологического метода микробные клетки, потерявшие эти важные с клинической точки зрения свойства, не дадут роста в клеточной культуре.

Для транспортировки и хранения клинического материала используют специальную транспортную среду. Она разливается в пенициллиновые флаконы по 1 мл и хранится при температуре +4⁰С - +8⁰С в течение 2-х месяцев. Состав транспортной среды: среда MEM с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота и гентамицина в концентрации 50 мкг/мл.

Клинический материал после перенесения в транспортную среду хранится при температуре + 4⁰С - +8⁰С и в течение двух суток должен быть доставлен в лабораторию.

Процедура заражения клеток

1. Обработка однодневной клеточной культуры McCoу 1% раствором ДЕАЕ декстраном в течение 30 минут;
2. Заражение обработанных клеток материалом, полученным от больных;
3. Центрифугирование зараженных клеток при 2500 g в течение 60 минут;

4. Отмывка клеток питательной средой;
5. Добавление к клеткам ростовой среды, содержащей циклогексимид;
6. Инкубирование клеток в течение двух суток при $+36^{\circ}\text{C}$;
7. Обнаружение хламидий в клетках методом ПИФ или ПЦР.

Реальный срок получения результатов этим методом – семь дней.

В настоящее время в литературе растет число сообщений о случаях резистентности хламидий к антибактериальным препаратам (макролидам, тетрациклинам, фторхинолонам). При проведении микробиологического метода исследования возможно не только выделение чистой культуры возбудителя, определение антибиотикоустойчивости, но и индивидуальный подбор противохламидийной терапии.

Схема выявления устойчивости *Chlamydia trachomatis* к антибактериальным препаратам

1. Чувствительные клетки линии McCoу заражаются культурой *Chlamydia trachomatis*, выделенной от больного
2. К зараженным клеткам добавляют ростовую среду, содержащую антибиотик в различных дозах
3. Зараженные клетки инкубируют 2-3 дня при температуре $+37^{\circ}\text{C}$
4. Чувствительность к антибиотику определяется по подавлению роста культуры *Chlamydia trachomatis* в зараженных клетках, то есть по снижению числа клеток с внутриклеточными включениями.

Цитологический метод обнаружения хламидий

Этот метод эффективен лишь при острых формах инфекции. В последнее время он практически не используется, в связи с его низкой чувствительностью. Многочисленные исследования показали, что использование цитологического метода позволяет диагностировать хламидийную инфекцию у больных лишь в 10-12% случаев. Наличие в цитологическом препарате, окрашенном по Романовскому-Гимза, телец Гальбершедтера-Провачека подтверждает диагноз хламидиоза, однако их отсутствие не исключает наличие инфекции.

Тем не менее, цитологический метод исследования дает возможность диагностировать хламидиоз на основании присутствия в исследуемом биологическом материале цитоплазматических клеток-включений Гальбершедтера-Провачека, оценить состояние слизистой уретры или цервикального канала (учитывается количество лейкоцитов как показателя воспаления) и получить дополнительную информацию о наличии сопутствующей бактериальной микрофлоры, дрожжеподобных грибов, трихомонад и т.п.

Цитологические препараты просматриваются в световом микроскопе (объектив $\times 90$) с иммерсией. При окраске по Романовскому-Гимза цитоплазма клеток окрашивается в голубой цвет, ядра - фиолетово-синий. Цитоплазматические включения определяются на фоне голубой цитоплазмы в виде темносиних или розовых микроколоний.

Иммуноцитологический метод

Это один из самых распространенных методов диагностики хламидийной инфекции. Метод иммунофлуоресценции основан на окрашивании мазков биологического материала моноклональными антителами, которые либо непосредственно конъюгированы с флуоресцентным красителем (прямой метод), либо выявляются в мазке вторичными флуоресцин-мечеными антителами (непрямой метод). Мазки исследуют под люминисцентным микроскопом. Время, затраченное на проведение одного анализа, в среднем составляет 30-60 минут.

При использовании данного метода диагностики возможно получение как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов. Получение ложноотрицательных результатов может быть связано с нарушением правил взятия биологического материала (малое количество или отсутствие эпителиальных клеток в мазке). Ложноположительные результаты могут быть следствием неспецифического связывания антител с неинфицированным материалом или другими представителями *Chlamydia spp.*

Прямая иммунофлуоресценция (ПИФ)

ПИФ предусматривает прямое выявление антигенов хламидий. При люминисцентной микроскопии хламидийные включения определяются в виде образований в клетке эпителия с зеленой или желто-зеленой флуоресценцией на коричнево-оранжевом фоне цитоплазмы клеток. Включения могут иметь зернистую, гомогенную или смешанную структуру.

Показаниями для диагностики хламидийной инфекции этим методом являются:

1. Острая фаза заболевания;
- 2. Хроническая фаза заболевания;**
3. Установление этиологии хронического инфекционного процесса урогенитального тракта;
4. Беременность при отягощенном акушерском анамнезе;
5. Бесплодие неясного генеза.

Метод ПИФ позволяет выявлять не только корпускулярные, но и растворимые антигены хламидий. Этот метод не зависит от возможного изменения тинкториальных свойств микроорганизма в процессе заболевания и лечения. ПИФ-метод является важнейшим скрининговым методом диагностики урогенитального хламидиоза. Его чувствительность и специфичность при использовании моноклональных антител составляет 65-90% и 85-90% соответственно.

Диагностические наборы, содержащие моноклональные антитела для ПИФ, выпускаются следующими фирмами: Syva, Difco, Kallastad, Bartrels, Boots celltech, California Integrated Diagnostics, Orion Diagnostica. Реагенты фирм Syva, Difco, Kallastad представляют собой меченные ФИТЦ моноклональные антитела к основному белку наружной

мембраны хламидий. Реагенты других фирм – моноклональные антитела к родоспецифическому хламидийному липолисахариду (ЛПС). В России ЗАО «НИАРМЕДИК плюс» при НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН выпускает моноклональные антитела к ЛПС хламидий - набор «Хламоноскрин» для определения моноклональных антител к родоспецифическому липолисахаридному антигену и набор «Хламоноскрин-2» для определения моноклональных антител к видоспецифическому белковому антигену *Chlamydia trachomatis*. Наборы имеют ФС 42-359598, регистрационное удостоверение Минздрава России 93/ 270/ 9 .

Моноклональные антитела отличаются друг от друга по яркости флюоресценции, постоянству выявляемых форм ЭТ и степени специфичности. В целом, метод ПИФ высоко чувствителен и специфичен при условии, что он выполняется опытным, компетентным лабораторным работником. Но, поскольку высококвалифицированная экспертная оценка методом ПИФ редко бывает доступной, средняя чувствительность ПИФ-метода недостаточно высока. Главный недостаток метода – его низкая чувствительность при малых количествах ЭТ в исследуемом материале. В этих случаях при использовании ПИФ-метода возрастает количество ложноотрицательных результатов.

Метод непрямой иммунофлюоресценции

Метод непрямой иммунофлюоресценции используют в тех случаях, когда нет в наличии ФИТЦ-конъюгата антихламидийных антител. Для этого приготовленный тем же методом, что и для ПИФ препарат из клинических проб обрабатывают вначале антихламидийными антителами, полученными путем иммунизации хламидиями овец, кроликов, мышей или других животных, а затем второй сывороткой, специфичной для вида животного, которое было иммунизировано хламидиями. Антитела второй сыворотки конъюгированы с ФИТЦ.

ИФА с определением бактериальных антигенов

В основе этого метода, также как и в иммунофлюоресцентном методе, лежит реакция связывания антител со специфическими полисахаридами или белками возбудителя (антигенами). Однако количественная оценка связывания антител с антигеном возбудителя производится не по интенсивности флуоресценции, а по степени выраженности цветной реакции. По сравнению с цитологическим и микробиологическим методами исследования, ИФА обладает преимуществом. Преимущество его заключается в том, что с его помощью можно определять не только сами микроорганизмы, но и их растворимые антигены, которые накапливаются в жидкостях инфицированного организма, например, в сыворотке крови, моче, отделяемом с поверхности конъюнктивы глаза, уретры или цервикального канала и т.д. К другим преимуществам ИФА следует отнести автоматизацию и высокую пропускную способность. Время проведения теста – 4-6 часов. Ложноотрицательные результаты являются следствием низкой концентрации антигенного материала в исследуемых образцах. Причины ложноположительных результатов аналогичны, описанным для метода иммунофлюоресценции.

Методы экспресс-диагностики

В основу методов экспресс-диагностики хламидийной инфекции положены иммунохроматография и ферментспецифическая реакция.

Использование наборов различных фирм для экспресс-диагностики хламидийной инфекции, позволяет визуально производить учет результатов через 10-15 минут. Однако чувствительность этих методов невысока -50-60%. Эти наборы могут быть использованы только для скрининговых исследований.

Диагностика *Chlamydia trachomatis* методом Полимеразной Цепной Реакции

В мире накоплен обширный клинико-лабораторный опыт по использованию метода ПЦР (полимеразная цепная реакция) для выявления ДНК/РНК *Chlamydia trachomatis* в биологическом материале. Высокие показатели чувствительности и специфичности ПЦР делают этот метод во многом революционным в лабораторной диагностике.

Основными мишенями при выявлении *Chlamydia trachomatis* являются нуклеотидная последовательность видоспецифической криптической плазмиды, последовательность главного белка внутренней мембраны, рибосомальные гены.

ПЦР представляет собой многократно повторяющиеся циклы синтеза (амплификацию) специфической области ДНК-мишени в присутствии термостабильной ДНК-полимеразы, дезоксинуклеотид-трифосфатов, соответствующего солевого буфера и олигонуклеотидных затравок-праймеров, которые определяют границы амплифицируемого участка. Каждый цикл состоит из трех стадий с различными температурными режимами. На первой стадии при +94⁰С происходит разделение цепей ДНК, затем при +56⁰С - +60⁰С - присоединение (отжиг) праймеров к комплементарным последовательностям на ДНК-мишени, и при температуре +72⁰С протекает синтез новых цепей ДНК путем достраивания цепей праймеров в направлении 5' -3'. В каждом цикле происходит удвоение числа копий амплифицируемого участка, что позволяет за 25-40 циклов наработать фрагмент ДНК, ограниченный парой выбранных праймеров, в количестве, достаточном для ее детекции с помощью электрофореза или альтернативными ему технологиями.

Для выявления РНК *Chlamydia trachomatis* предварительно проводят стадию получения кДНК при реакции обратной транскрипции.

В клинической практике чаще всего определяют ДНК *Chlamydia trachomatis*.

По сравнению с широко используемыми в клинической практике иммунологическими тестами **ПЦР-диагностика обладает рядом преимуществ:**

- высокой специфичностью, которая обусловлена подбором праймеров комплементарных уникальной нуклеотидной последовательности тестируемых микроорганизмов, вирусов и т.д.;
- адекватной чувствительностью, позволяющей диагностировать не только острые, но и латентные инфекции в клинически значимом титре (возможно выявление даже единичных бактерий или вирусов);
- сходный химический состав нуклеиновых кислот позволяет разрабатывать универсальные процедуры для выявления различных инфекционных агентов;
- возможностью идентификации возбудителя в течение 4,5-5 часов.

Важной отличительной особенностью ПЦР-диагностики является относительно низкая стоимость оборудования и тест-систем для проведения анализа, которые сочетаются с универсальностью метода.

Требования, предъявляемые к устойчивости ПЦР-лаборатории

ПЦР-лаборатория должна быть разделена на зоны (комнаты), которых должно быть не менее двух. В пре-ПЦР-помещении проводится обработка клинических образцов, выделение ДНК, приготовление реакционной смеси для ПЦР и постановка ПЦР (при наличии условий два последних этапа рекомендуется также проводить в дополнительном отдельном помещении). В этом помещении (помещениях) запрещается проводить все другие виды работ с инфекционными агентами (микробиологический анализ, ИФА, другие диагностические тесты), ПЦР-диагностика которых проводится в данной лаборатории. В комнате приготовления реакционной смеси и в комнате обработки клинических образцов должны быть установлены ультрафиолетовые лампы.

В пост-ПЦР-помещении проводится детекция продуктов амплификации. Это помещение должно быть расположено как можно дальше от пре-ПЦР-помещений. В пост-ПЦР-помещении важно также исключить движение воздушного потока из пост-ПЦР-помещения в пре-ПЦР-помещение.

Рабочие поверхности в ПЦР-лаборатории должны обрабатываться дезинфицирующими растворами.

Показания для диагностики *Chlamydia trachomatis* методом ПЦР

1. Острая фаза заболевания;
2. Хроническая фаза заболевания;
3. Установление этиологии хронического инфекционного процесса уrogenитального тракта;
4. Беременность с отягощенным акушерским анамнезом;
5. Бесплодие неясного генеза;
6. Контроль эффективности проведенного антибактериального лечения.

В случае выявления фрагмента ДНК *Chlamydia trachomatis* после курса химиотерапии следует провести микробиологическую диагностику для исключения ложноположительного результата. Если проведение микробиологической диагностики невозможно, то необходимо через 5-6 недель (за это время происходит полное обновление эпителиального покрова мочеполювых путей) провести повторное исследование методом ПЦР.

7. Выявление хламидий у ВИЧ-инфицированных лиц, больных туберкулезом, вирусным гепатитом и с вторичными иммунодефицитными состояниями (онкологические больные после курсов химио- и лучевой терапии, трансплантации костного мозга, получающие иммуносупрессивную терапию).

В 1991 году компания Хоффман-ла Рош ЛТД получила от компании Cetus права и патенты на использование ПЦР. В этом же году была создана компания Roche Molecular Systems, которая занимается исключительно вопросами развития и совершенствования ПЦР. В 1992 году этой компанией были внедрены первые стандартизованные тест-системы для проведения клинической ПЦР-диагностики - AMPLICOR *Chlamydia trachomatis*. В 1993 году начато производство этих тест-систем.

Многочисленные исследования показали высокую чувствительность и специфичность данного набора. Это позволило присвоить этой тест-системе сертификат Food and Drug Administration (FDA) в 1993 году. В 1995 году появился новый набор AMPLICOR *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* для проведения одновременной их детекции в одной пробирке. В этом наборе были использованы биотинилированные праймеры (CP24/CP27) из криптической плазмиды *Chlamydia trachomatis*. Чувствительность теста составила 10 копий/мл, специфичность 99,6%.

Тест-система включает: набор для взятия и транспортировки образцов биологического материала, набор для выделения ДНК из цервикальных, уретральных образцов и мочи, набор для амплификации и детекции. Все наборы стандартизованы, полностью готовы к использованию, имеют внутренний контроль, систему защиты от контаминаций.

Научно-производственной фирмой "Литех" при НИИ физико-химической медицины МЗ РФ выпускается набор отечественных реагентов "Полимик" в виде трех отдельных наборов для определения соответственно *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*. Каждый набор "Полимик" комплектуется отдельным набором для выделения ДНК из биопроб. Инструкция по применению набора реагентов рекомендована к утверждению экспертной комиссией Комитета по новой медицинской технике МЗ РФ (протокол No 3 от 18.03.96 г) и утверждена Министерством здравоохранения РФ 17.05.96 г (ТУ 9398-405-17253567-96).

Методика проведения анализа методом ПЦР

При выполнении анализа методом ПЦР необходимо строго соблюдать протокол исследования, указанный в инструкции к конкретному ПЦР набору конкретного производителя. В общих чертах в постановке ПЦР можно выделить три основных этапа:

1. Выделение ДНК из клинического образца;
2. Амплификация специфических фрагментов ДНК;
3. Детекция продуктов амплификации;

Выделение ДНК из клинического образца.

На данной стадии проведения анализа клиническая проба подвергается специальной обработке, в результате которой происходит лизис клеточного материала, удаление белковых и полисахаридных фракций, и получение раствора ДНК или РНК, свободной от ингибиторов и готовой для дальнейшей амплификации. Как правило, набор для выделения ДНК или РНК входит в комплект набора для проведения анализа методом ПЦР. В наборах для выделения ДНК у большинства фирм производителей, как правило, реализованы фенол-хлороформенный или сорбционный способы очистки ДНК. В 2001 г НПФ «Литех» был разработан и выпускается принципиально новый набор для выделения ДНК из биопроб «ДНК-Экспресс», который также входит в комплект набора «Полимик» для определения ДНК *Chlamydia trachomatis*. В данном наборе используется метод термокоагуляционного кондиционирования ДНК. По сравнению с другими методиками выделения ДНК, которые основаны на использовании сорбентов, метод термокоагуляционного кондиционирования ДНК имеет следующие преимущества:

- процесс выделения ДНК из биопробы включает всего 3 стадии: перемешивание на вортексе, прогрев и центрифугирование. Это позволяет сократить время и трудозатраты на пробоподготовку. На обработку 24 проб требуется около 20 минут (для сорбентного метода пробоподготовки затрачивается около 1,5 часа).

- отпадает необходимость использования отдельного комплекса пипеток-дозаторов и вакуумного насоса с колбой-ловушкой на стадии пробоподготовки. Значительно сокращается расход одноразовых наконечников.

- поступившая в ПЦР-лабораторию пробирка с биопробой в процессе выделения ДНК ни разу не открывается вплоть до постановки амплификации. Это, в первую очередь, снимает проблему перекрестной контаминации.

Амплификация специфических фрагментов ДНК.

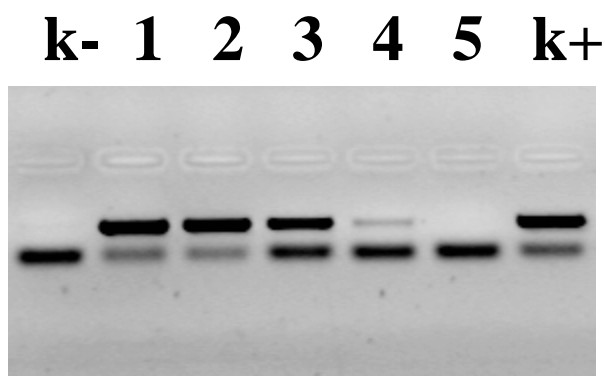
На данной стадии происходит накопление коротких специфических фрагментов ДНК в количестве, необходимом для дальнейшей детекции. В большинстве методик определения специфических фрагментов генома *Chlamydia trachomatis* используется «классический» вариант ПЦР с использованием одной пары праймеров, которые ограничивают специфически синтезируемый фрагмент ДНК.

В комплект набора для амплификации входит пробирка с положительным контрольным образцом, который всегда анализируют параллельно с исследуемыми пробами для корректной оценки результатов амплификации на последнем этапе анализа. Кроме того, рекомендуется анализировать и отрицательный контрольный образец, которым может служить деионизованная вода, для оценки чистоты эксперимента (исключения возможности контаминации). Общей тенденцией для фирм-производителей ПЦР наборов в последнее время стало внедрение в тест-системы «внутреннего» контроля. Как правило, таковым контролем служит рекомбинантная плазмида, содержащая фрагмент неспецифичной для *Chlamydia trachomatis* ДНК, которая амплифицируется, но при этом синтезируется фрагмент ДНК отличный по своим размерам от синтезируемого фрагмента *Chlamydia trachomatis*. Наличие «внутреннего» контроля позволяет контролировать процесс прохождения реакции амплификации, а также тестировать наличие в пробах веществ, ингибирующих ПЦР. Так, например, в состав реакционной смеси набора «Полимик» (НПФ «Литех») входит внутренний контроль (рекомбинантная плазмида, содержащая фрагмент-вставку размером около 500 н.п.), тогда как анализируемый фрагмент ДНК *Chlamydia trachomatis* имеет размер в 273 н.п.

Детекция продуктов амплификации

В большинстве методик на данном этапе проводится разделение смеси продуктов амплификации, полученной на 2-ой стадии, методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. До проведения электрофоретического разделения, к амплификационной смеси добавляется раствор бромистого этидия, образующий с двухцепочечными фрагментами ДНК прочные соединения внедрения. Эти соединения под действием ультрафиолетового облучения способны флуоресцировать, что регистрируется в виде оранжево-красных светящихся полос после электрофоретического разделения амплификационной смеси в агарозном геле (Рисунок 4).

Рисунок 4 Фотография электрофореза в агарозном геле



Набор «Полимик» *Chlamydia trachomatis* (НПФ «Литех») (K-) - отрицательный контрольный образец, (K+) - положительный контрольный образец, (1-5) – клинические пробы.

Изображение с такого электро-форезного геля можно документи-ровать фотографическим способом (с использованием оранжевого свето-фильтра) или при помощи специальных систем гель-документации на базе компьютера, переводящих изображение в цифровой формат.

Электрофоретический метод детекции продуктов амплификации самый простой в исполнении. Тем не менее, такой формат детекции ПЦР-продуктов в настоящее время является устаревшим, в силу ряда существенных недостатков. Такowymi являются субъективность оценки результатов электрофореза оператором, низкая производительность, невозможность автоматизации процесса, трудность количественной оценки продуктов ПЦР реакции в каждом конкретном образце. Наибольшую опасность представляет возможность наработки в ходе ПЦР неспецифического продукта, сходного по размерам с детектируемым. В этом случае при существующей системе детекции возможна выдача оператором ложноположительного результата.

Альтернативой электрофоретическим методам детекции ПЦР-амплифицированной ДНК являются методы ДНК-гибридизации. В ходе такого способа детекции амплифицированная ДНК гибридизуется с олигонуклеотидным зондом, специфичным к внутренней последовательности анализируемого фрагмента. Образовавшийся гибрид автоматически регистрируется флуоресцентным или фотометрическим ридером. Таким образом, при гибридационном способе детекции ДНК специфичности реакции амплификации подтверждается несколько раз. Сначала в ходе самого этапа амплификации (отжига праймеров) и вторично при гибридации получившегося продукта со специфичным зондом.

Гибридационный способ детекции был предложен фирмой Хоффман-ла Рош и используется в наборе для ПЦР-диагностики AMPLICOR *Chlamydia trachomatis*. Из отечественных фирм-производителей гибридационная схема детекции продуктов амплификации впервые была предложена НПФ «Литех» в технологической схеме «ПлаТан» в 2000 году. В настоящее время для такого способа детекции адаптировано большинство ПЦР наборов производства НПФ «Литех», в том числе и модифицированный набор для определения ДНК *Chlamydia trachomatis* – Полимик-«F». При использовании данной технологии гибридация осуществляется в специальных микропланшетах с применением флуоресцентных олигонуклеотидных зондов. Регистрация гибридации осуществляется прибором – микропланшетным флуориметром Fluoroskan Ascent (Лабсистемс, Финляндия).

Калькуляция результата производится автоматически специально разработанной компьютерной программой и выводится на экран, как в символьном (“-”, “+”), так и в цифровом виде (Рисунок 5).

Рисунок 5 Выдача результата ПЦР-анализа ДНК *Chlamydia trachomatis* при применении гибридационной технологии «ПлаТан» (НПФ «Литех»)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1											
2	Калькуляция результата для анализа: <i>Chlamydia trachomatis</i>										
3											
4	Отрицательный результат: (отсутствие ДНК в пробе) "- " если <= 80										
5	Зона не достоверного результата (необходим повтор анализа): "? " если <80										
6	Положительный результат (в пробе выявлена ДНК) "+ " если > 100										
7											
8											
9		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		Blank 1	Blank 2	SD 12	DDF 56	TYR 67	2337	BV 33			
11	A	-	-	+	-	-	-	-			
12		PCR +	PCR -	SD 13	DDF 78	TYR 78	2338	BV 34			
13	B	+	-	-	-	-	-	-			
14		hh12	KK 12	SD 14	DDF 89	TYR 79	2339	BV 35			
15	C	-	-	-	-	-	-	-			
16		2234	KK 14	SD 15	DDF 90	TYR 89	ER 42	BV 36			
17	D	+	-	-	-	-	-	-			
18		4332	KK 27	SD 16	DDF 121	TYR 68	ER 45	BV 37			
19	E	-	-	-	-	-	-	-			

Основным преимуществом применения гибридационных схем детекции амплифицированной ДНК является повышение точности анализа. Это достигается за счет исключения субъективности зрительной оценки врачом-лаборантом результатов электрофореза. Кроме того, такая схема более технологична, производительна и благодаря применению стандартизованного микропланшетного формата, поддается поэтапной или полной автоматизации.

Анализ результатов

В таблицах 6 и 7 приведены данные А.М. Савичевой и М.А. Башмаковой по выявлению *Chlamydia trachomatis* в клинических пробах различными методами исследования, в которых использованы выборки из исследований, когда *Chlamydia trachomatis* были обнаружены хотя бы одним из методов. Как видно из данных таблиц ПЦР-исследование наиболее информативно как при исследовании первичных материалов, так и при детекции ДНК хламидий в клеточной культуре, зараженной клиническим материалом.

Таблица 6

Сравнительная чувствительность прямых методов исследования (ПИФ, ПЦР, ИФА) при выявлении *Chlamydia trachomatis* в клинических образцах

Методы детекции	Выявление <i>Chlamydia trachomatis</i> в одних и тех же пробах (%)
ПИФ	68,9
ПЦР	94,8
ИФА	25,62

Таблица 7

Сравнительная чувствительность прямых методов исследования (ПИФ, ПЦР) при выявлении *Chlamydia trachomatis* в клеточной культуре, зараженной клиническим материалом

Методы детекции	Выявление <i>Chlamydia trachomatis</i> в одних и тех же пробах (%)
ПИФ	94
ПЦР	96,2

Методы непрямого выявления *Chlamydia trachomatis*

Эта группа методов позволяет, с одной стороны, избежать ложно-отрицательных результатов при прямых методах, а, с другой, - помогает в ряде случаев определить стадию и характер течения заболевания. Это особенно важно при восходящей и персистирующей инфекции, которая поддерживает хроническое течение болезни на протяжении многих месяцев и лет, и тем самым повреждает или разрушает ткани и органы. Кроме того, методы непрямого выявления бактерий особенно хороши при трудностях взятия материала для обнаружения антигена, например у детей.

В основе этих методов лежит выявление специфических антител, которые накапливаются в сыворотке крови и секретах инфицированного организма, в процессе иммунного ответа на внедрение возбудителя инфекционного заболевания. Антитела относятся к трем классам иммуноглобулиновых молекул: М, G и А. Накопление антител каждого из этих классов происходит через разные промежутки времени от начала иммунного ответа и зависит от характера инфицирования (первичное или вторичное). При первичном инфицировании сначала появляются антитела класса М, затем – G, и в последнюю очередь – А. По мере угасания иммунного ответа снижение концентрации (титра) антител каждого из классов происходит в той же последовательности. Иммунный ответ при повторном проникновении возбудителя характеризуется быстрым нарастанием титра антител классов G и А, и практически полным отсутствием антител класса М.

Таким образом, при остром инфекционном процессе у больных можно обнаружить антитела класса М или быстро нарастающие/снижающиеся количества антител классов G и А. Напротив, при хронически протекающих заболеваниях выявляются специфические антитела классов G и А, концентрации которых не изменяются на протяжении длительного времени. В ряде случаев (около 3%) при хронически протекающих заболеваниях, прежде чем образуются антитела класса G, в течение нескольких недель регистрируются невысокие титры антител класса А. У больных с бессимптомным течением заболевания определение антител класса А в постоянно низких титрах, на протяжении многих недель, говорит о наличии микробной персистенции. Низкие, неменяющиеся во времени титры специфических антител класса G указывают на давно перенесенную хламидийную инфекцию. В процессе терапии двух-трех кратное снижение количества антител классов G и А указывает на ее успешное проведение.

Для того чтобы оценить динамику изменений титров антител различных классов в клинике часто используют метод парных образцов. В соответствии с этим методом у одного и того же пациента проводят качественный и количественный анализ специфических антител с интервалом 2-3 недели.

Таблица 8 Серологическое определение стадии заболевания

Стадия заболевания	Определяемые антитела	Динамика развития заболевания
Острая	IgM, IgG, IgA*	Быстрое изменение титров
Хроническая	IgG, IgA*	Титры постоянные
Реактивация/ Реинфекция	IgG, IgA*	Быстрое изменение титров

При неясном результате IgA, подтверждение осуществляется определением IgM.

Таблица 9 Серологические критерии для диагностики хламидийной инфекции по результатам МИФ-теста

Острая инфекция	4-кратное увеличение уровня сывороточных IgG; титр IgMi 1:16; титр IgGi 1:512
Предшествующие антитела	Титр IgG 1:16, <512

Таблица 10 Серологические критерии для диагностики хламидий-ных инфекций по результатам г-ELISA

	IgG	IgA	IgM
Первичная/ острая выявляют IgM	>100 - 6400	>50 - 1600	>50 - 3200
Хроническая выявляют IgA	>100 - 1600	>50 - 200	<50
Реактивация/ Ренифекция выявляют IgA, IgG	>100 - 5200	>50 - 400	<50
Остаточная серология выявляют IgG	>100 - 400	<50	<50

На основании сравнения результатов при первом и втором обследовании делают заключение о характере и стадии заболевания.

Регистрацию специфических антител можно проводить одним из иммунологических методов. Наиболее эффективными являются методы микроиммунофлуоресценции (МИФ) и рекомбинантного липополисахаридного ИФА (г-ELISA), которые с одной стороны не требуют большого количества биологического материала, а с другой – позволяют достаточно точно определить к какому классу относятся антитела. На основании этих методов удалось установить серологические критерии для диагностики характера и стадии заболеваний, вызываемых хламидиями.

В России используются наборы реактивов Imx Select Хламидия (Abbott Laboratories) и Chlamydia-antigen ELISA (Medac Diagnostica).

Тест Imx Select Хламидия основан на технологии ИФА-анализа на микрочастицах (МИФА) и предназначен для качественного определения липополисахаридного антигена *Chlamydia trachomatis* в исследуемом биологическом материале на анализаторе Imx. Поскольку этот набор содержит компоненты, полученные из человеческого материала, то при его использовании необходимо соблюдение правил биологической безопасности.

Узел пробоотборник/электрод добавляет микрочастицы в лунку, содержащую образец. Предварительно экстрагированный липополисахаридный антиген (ЛПС) образца связывается с микрочастицами. Реакционная смесь, содержащая комплексы микрочастиц с ЛПС антигеном, наносится на стекловолокнистый матрикс реакционной ячейки. Микрочастицы необратимо связываются с матриксом. К матриксу добавляются кроличьи антитела против *Chlamydia trachomatis*. Они связываются с ЛПС антигеном. Биотинилированные козы анти-кроличьи антитела добавляются к матриксу и связываются с комплексом анти-хламидия/ЛПС антиген. К матриксу добавляется конъюгат щелочной фосфатазы и антител против биотина. Происходит связывание конъюгата с комплексом антиген/антитело. После удаления не связанного материала промыванием к матриксу добавляется субстрат 4-метилумбеллиферилфосфат. Образование флуоресцирующего продукта измеряется в оптическом узле МИФА.

Тест-система Chlamydia-Antigen-ELISA medac (регистрационное удостоверение Министерства Здравоохранения РФ № 97/128 от 07.02.97 г) является экономным и в то же время достаточно специфичным и чувствительным методом в рутинной диагностике хламидийной инфекции. В основу этого теста положен метод твердофазного ИФА-анализа. Он дает возможность определения антигенов хламидий. Твердая фаза покрыта хламидийными моноклональными антителами установленной специфичности. Амплификация достигается с использованием технологии полимерной конъюгации, в результате чего происходит фиксация, при которой на каждый связанный участок антигена приходится полимерный комплекс с высокомолекулярным фрагментом. Визуально положительные пробы окрашиваются в желто-оранжевый цвет. Интенсивность окраски пропорциональна количеству антигена хламидии. Точный результат исследования определяют с помощью микроЭВМ, спектрофотометра "Мультискан" или другого аппарата для ИФА при длине волны 492 нм. Образцы, дающие значения поглощения выше или равные значению отсекающего поглощения (cut-off), считаются положительными. Чувствительность и специфичность ИФ методов соответственно составляет 65-70% и 90-100%.

Тест-система rELISA фирмы MEDAC DIAGNOSTICA (Германия) представляет собой иммуноферментные наборы для выявления антихламидийных антител классов IgG, IgA, IgM с определением их титра в сыворотке крови. Регистрационное удостоверение Министерства Здравоохранения РФ №97 от 7.02.97 г. Антиген для этих тест-систем получен методами генной инженерии. В качестве антигена твердой фазы используются специфические рекомбинантные липополисахаридные фрагменты хламидий, отсутствующие в липополисахаридах других бактерий. Это важно учитывать, потому что обследуемое лицо может в течение жизни подвергаться инфицированию не только *Chlamydia trachomatis*, но и другими хламидиями с выработкой к ним соответствующих антител. Понижение титра антител служит важнейшим показателем эффективности проводимого лечения.

С января 1999 г на российском рынке появились тест-наборы *Chlamydia trachomatis* IgG и IgA rELISA medac. Они используют синтетический пептид из иммунодоминантной области MOMP. С помощью этого высокоспецифичного антигена возможно выделение специфических антител к *Chlamydia trachomatis* высокой степенью чувствительности.

Показания к выявлению антихламидийных антител классов IgG, IgA, IgM в сыворотке крови методом ИФА

1. Определение стадии заболевания:

- острая, первичная;
- хроническая;
- реактивация или реинфекция;
- состояние после реконвалесценции (остаточная серология);

2. Оценка эффективности проводимого лечения (наряду с исследованием культуральным методом и ПЦР)

3. Установление хламидийной этиологии экстрагенитальных поражений:

- артриты;
- пневмонии;
- заболевания глаз.

Преимущества теста:

- отсутствие ложноположительных результатов, обусловленных межвидовой перекрестной реакцией хламидий;
- отсутствие инфекционного антигенного материала;
- химически точная структура антигена;
- наличие стрипов позволяет экономично использовать тесты;
- тест пригоден для использования на автоматических открытых системах для ИФА.

ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) производит следующие тест-системы для диагностики хламидиоза методом ИФА:

- ХламиБест-IgG-стрип для выявления иммуноглобулинов классов G к *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia psittaci* в сыворотке крови;
- ХламиБест-Trachomatis IgG-стрип. Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к *Chlamydia trachomatis* в сыворотке (плазме) крови;
- ХламиБест-IgM - стрип. Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса M к *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia psittaci*;
- ВектоХлами-антиген-стрип. Тест-система для выявления антигена *Chlamydia trachomatis*. Хромоген-ОФД.
- ВектоХлами-антиген-стрип. Тест-система для выявления антигена *Chlamydia trachomatis*.

Изменения иммунного статуса при хламидийной инфекции

При хламидийной инфекции происходят изменения как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета. В настоящее время доказано, что при хламидиозе начинают развиваться следующие защитные иммунологические реакции:

- локальное образование секреторного IgA;
- цитотоксическая защита посредством Т-лимфоцитов;
- образование антител классов IgM, IgA, IgG к хламидийному липополисахаридному антигену.

Изменения показателей иммунитета системы при острых поражениях нижнего отдела урогенитального тракта (уретрит, цервицит), как правило, неотчетливы. При хронизации и распространении процесса (спальпингит, простатит, артриты) они приобретают стойкий характер.

При исследовании клеточного звена иммунитета непрямым иммуно-флюоресцентным методом с помощью моноклональных антител, определении концентрации IgG, IgA, IgM методом радиальной иммунодиффузии могут выявляться следующие нарушения: в гуморальном звене - снижение IgG и IgA при снижении относительного содержания клеток СД 72 (В-лимфоцитов). Дисбаланс клеточного звена иммунитета выражается в достоверном снижении клеток СД4 (относительное содержание), тенденции к повышению СД8, очевидно, за счет роста цитотоксических клеток и, как следствие, снижение иммунорегуляторного индекса. Факторы неспецифического иммунитета характеризуются значительным повышением относительного содержания популяции естественных киллеров, а также недостаточной функциональной активностью опсоно-фагоцитарной системы.

Для клинициста такое иммунологическое обследование больного хламидийной инфекцией необходимо для обоснованного назначения иммуномодулирующих препаратов, в частности, оказывающих стимулирующее действие на нейтрофильно-фагоцитарное и Т-клеточное звено иммунитета. Необходимо осуществлять индивидуальный подбор иммуномодуляторов на основании изучения функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов системы фагоцитоза методом люминолзависимой хемолуминесценции (ЛЗХЛ). Основанием для назначения того или иного препарата является максимальное по сравнению с другими повышение активности фагоцитов, детектируемое амплитудой вспышки ЛЗХЛ в момент внесения данного препарата в исследуемую пробу крови.

Основные принципы лечения больных хламидийной инфекцией

Лечение урогенитального хламидиоза должно быть комплексным, включающим этиологическое, патогенетическое, симптоматическое лечение и местное воздействие на очаги поражения.

Внутриклеточное паразитирование хламидий обуславливает применение антибиотиков, способных проникать и накапливаться в пораженных клетках и блокировать внутриклеточный синтез белка. Данными свойствами обладают тетрациклины, макролиды и хинолоны. Длительность антибиоткотерапии, описываемая в литературе противоречива. Так, в одних источниках показана эффективность лечения доксициклином по 100 мг 1 раз в сутки в течение 7 дней или эффективность сумамеда при однократном приеме 1,0 г. Экспериментальные наблюдения других исследователей свидетельствуют, что 10-14 дневная монотерапия антибиотиком эффективна лишь в 55-60% случаев. Спорной можно считать методику лечения урогенитального хламидиоза по схеме «пульс-терапии». При этом антибиотики разных групп назначаются повторно (2-3 раза) 7-10 дневным курсам с перерывами 14-21 день. Необходимость перерывов объясняется тем, что после 1-го курса терапии оставшиеся резистентные к антибиотикам элементарные тельца хламидий, находящиеся вне клеток могли бы проникнуть в эпителиальные клетки с дальнейшей трансформацией в ретикулярные тельца, ингибируемые при повторных курсах антибиотико-терапии.

Проведенные нами клинико-лабораторные исследования свидетельствуют о том, что длительность антибиоткотерапии при неосложненных формах урогенитального хламидиоза составляет 14 дней, а при осложненных формах – 14-21 день, что в большинстве случаев позволяет добиться клинико-этиологического излечения.

Рекомендуемая длительность антибиотикотерапии основывается на временных параметрах цикла развития хламидий и блокировании достаточного количества циклов репродукции возбудителя для санации организма на фоне активной патогенетической терапии.

Нередко у больных урогенитальным хламидиозом выявляются различные нарушения иммунного статуса. Отмечается снижение общего числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов, а также коэффициента Тх/Тс. При этом значительные нарушения наблюдаются в интерфероновом статусе больных. Продукция а-ИНФ обычно снижена в 2-4 раза по сравнению с нормой. В подобных случаях на основании данных иммунологического обследования целесообразно включение в комплекс терапевтических мероприятий препаратов интерферона, индукторов интерферона, а также иммуноактиваторов.

Важную роль в патогенетической терапии хламидиоза играет также энзимотерапия (трипсин, химотрипсин, вобэнзим и др.), которая нормализует в очагах воспаления проницаемость мембран клеток, блокирует адгезивные механизмы, запускающие аутоиммунные реакции, обеспечивает противоотечный и анальгетический эффекты, раннее начало репаративных процессов, а также потенцирует действие антибиотиков, на 20-40% повышая их концентрацию в сыроватке крови. Кроме того, энзимотерапия, способствует распространению отложения фибрина в сосудах, восстанавливая тем самым, периферическое кровообращение.

Для повышения качества лечения целесообразно также присоединение местной терапии препаратами серебра, растворами Люголя, хлоргекседином, а в восстановительный период для стимуляции репаративных процессов – раствором перфторана, антиоксидантами и др., а также применение ферментов, витаминов, адаптогенов, эубиотиков.

Таблица 11 Антибиотики, используемые для лечения урогенитального хламидиоза

Препарат	Схема терапии
Доксициклин	по 100 мг 2 раза в сутки после еды: первый прием 200 мг при неосложненной форме 10-14 дней при осложненной и др. формах 14 дней и более
Тетрациклин	500 мг 4 раза в сутки, после еды при неосложненной форме 10-14 дней при осложненной и др. формах 14 дней и более
Эритромицин	500 мг 4 раза в сутки, за 1 час до еды при неосложненной форме 10-14 дней при осложненной и др. формах 14 дней и более
Сумамед	по 250 мг 1 раз в день в течение 11 дней первый прием 500 мг, на курс 3 г при осложненной и др. формах 14 дней
Вильпрофен (Джозамицин)	по 500 мг 2 раза в сутки, после еды через 2 ч при неосложненной форме 10-12 дней при осложненной и др. формах 14 дней и более
Ровамицин (Спирамицин)	по 3 млн МЕ 3 раза в сутки, после еды через 2 ч при неосложненной форме 10 дней при осложненной и др. формах 14 дней и более
Рокситромицин (Рулид)	по 150 мг в 2 раза в сутки при неосложненной форме 7-10 дней при осложненной и др. формах 14 дней и более
Ломофлоксацин (Максаквин)	по 600 мг 1 раз в сутки, после еды при неосложненной форме 10-14 дней при осложненной и др. формах 14 дней и более
Офлоксацин (Таревид)	по 300 мг 2 раза в сутки, после еды при неосложненной форме 10 дней при осложненной и др. формах 14 дней
Пефлоксацин (Абактал)	по 400 мг 2 раза в сутки, во время еды при неосложненной форме 10 дней при осложненной и др. формах 14 дней

Примечание: На первый прием назначаются ударные дозы антибиотиков. Доксициклин, тетрациклин и фторхинолоны противопоказаны беременным и кормящим женщинам, а также детям до 14 лет. Из всех антибиотиков-макролидов беременным и кормящим женщинам разрешено применение только эритромицина и спирамицина.

Таблица 12 Препараты интерферона и индукторы интерферона, используемые в комплексном лечении урогенитального хламидиоза

Препарат	Схема терапии
Интерферон	0,5-1,0 млн МЕ в/м через день 2-3 недели
Лейкинферон (ЛФ)	по 1 ампл (10 000 МЕ) в/м 2-3 раза в неделю 2-3 недели
Интерлок	по 500 000 МЕ в/м ежедневно в течение 2-х недель
Реаферон (интерферон альфа 2а)	по 1 млн МЕ в/м ежедневно в течение 2-х недель
Реальдирон (интерферон альфа 2в)	По 1 млн МЕ в/м ежедневно в течение 2-х недель
Амиксин в период обострения	250 мг 1 раз в день 2-ое суток, затем по 125 мг через день 3-4 недели
Полудан	200 мкг в/м ежедневно в течение 10 дней
Циклоферон	200 мг в/м ежедневно 10 дней
Неовир в период обострения	250 мг в/м ежедневно – 3 дня, затем по 250 мг в/м через день 2-3 инъекции
Ридостин в период обострения	по 8 мг в/м 1 раз в 3 дня, на курс 3 инъекции

Таблица 13

Иммуномодуляторы, используемые в комплексном лечении урогенитального хламидиоза

Препарат	Схема терапии
Полиоксидоний	6 мг в/м через день, на курс 10 инъекций. При персистирующей урогенитальной хламидийной инфекции антибиотики присоединять с 10-го дня лечения.
Т Активин 1,0 мл	0,5-1,0 мл п/к через день, на курс 7-10 инъекций
Тималин 1,0 мл	1,0 мл в/м ежедневно, на курс 10 инъекций
Деринат 1,5%-5,0 мл	5,0 мл в/м каждые 3 дня, на курс 5-10 инъекций

Таблица 14

Препараты, используемые в комплексном лечении урогенитального хламидиоза с целью влияния на звенья патогенеза

Препарат	Схема терапии
Средства для системной энзимотерапии	
Лидаза 64 УЕ	64 УЕ п/к ежедневно, на курс 10-15 инъекций
Трипсин 10,0 мг	10,0 мг в/м ежедневно, на курс 10-15 инъекций
Вобэнзим таб. №40	3 таб. 3 раза в сутки в течение 2-4 х недель за 40 мин до еды, запивая 200-300 мл воды
Флогэнзим та. №20	20 таб. 3 раза в сутки в течение 2-4 х недель за 30 мин до еды, запивая 200-300 мл воды
Гепатопротекторы	
Эссенциале капс. №60	2 капс. 2-3 раза в сутки во время еды 2-4 недели
Карсил 70 мг капс. №80	1 капс. 3 раза в сутки 2-4 недели
Легалон 70 мг драже №40	1-2 драже 3 раза в сутки 2-4 недели
Антиоксиданты и их синергисты	
Витамин Е 100 мг капс. №25	1 капс. 1-2 раза в сутки 2 недели
Метионин 250 мг таб. №50	2 таб. 3 раза в сутки 2-3 недели
Тиосульфат Na 30%- 10,0	10,0 мл в/в ежедневно, на курс 10 инъекций (при остром процессе)
Аскорбиновая кислота 0,1 гр таб. №50	3 таб. 3 раза в сутки 1-2 недели
Глутаминовая кислота 0,5 гр №50	2 таб. 2-3 раза в день 2-3 недели
Эубиотики	
Бифидум бактерин	3-5 доз развести кипяченой водой

Схема лечения нижнего отдела урогенитального тракта

I этап – подготовительный (7 дней):

Иммункоррекция (при нарушениях иммунного статуса) – амиксин по 250 мг 1 раз – 2 дня, затем по 125 мг через день 4 недели (или полиоксидоний по 6 мг в/м через день, на курс 5 инъекций). Системная энзимотерапия – трипсин 10 мг в/м ежедневно 2 недели (или вобэнзим по 2 таб. 3 раза в день за 40 мин до еды 2-3 недели). Местное лечение – инстилляции, ванночки, микроклизмы 0,05% раствором хлоргексидина. Витаминотерапия – ундевит по 2 драже 3 раза в день. Антиоксиданты (витамин Е) и их синергисты.

II этап – базисный:

Антибиотикотерапия (2 недели) на фоне продолжающегося I-го этапа лечения. Доксициклин 100 мг 2 раза в день или вильпрафен 500 мг 2 раза в день. Антимикотики по показаниям в терапевтических концентрациях. Ферменты, улучшающие пищеварение (фестал, мезим-форте и др.).

III этап – восстановительный (2 недели):

Гепатопротекторы (карсил, эссенциале и др.). Восстановление нормального биоценоза (бификол по 5 доз 2 раза внутрь 3-4 недели и зубиотики в свечах, тампонах во влагалище). Местное лечение очагов поражения с использованием антиоксидантных препаратов или перфторана. Физиотерапия по показаниям.

Схема лечения осложненного хламидиоза

(органов малого таза и мошонки)

Тактика лечения зависит от степени манифестации клинических проявлений заболевания.

При островыраженных воспалительных явлениях, преимущественно обусловленных сочетанной бактериальной инфекцией. На I-м этапе проводится базисное лечение: антибиотикотерапия (доксициклин по 100 мг 2 раза в сутки в течение 21 дня или вильпрафен 500 мг 2 раза в день), иммунотерапия (амиксин или полиоксидоний по схеме), антиоксиданты, витаминотерапия.

На 7-10 день от начала лечения присоединяется системная энзимотерапия. Антимикотики по показаниям.

На II-м этапе – восстановительном: гепатопротекторы, физиотерапия (ультразвуковое, лазеромагнитные воздействия на область вовлеченных в процесс органов). Местно выполняются инстилляции, микроклизмы, ванночки раствором перфторана или 0,05% раствором хлоргексидина, в последующем антибиотиками.

При вялотекущем воспалительном процессе на I-м этапе – подготовительном проводится: индуктотерапия пораженных органов (2-3 недели), иммуно-коррекция (амиксин по схеме 4 недели или полиоксидоний по 6 мг в/м через день на курс 10 инъекций), системная энзимотерапия (по схеме 2 недели), местное лечение (инстилляции, ванночки, микроклизмы) 0,05% раствором хлоргексидина.

На II-м этапе – базисном через 7-10 дней от начала лечения: доксициклин по 100 мг 2 раза в сутки в течение 21 дня или вильпрафен 500 мг 2 раза в день, антимикотики по показаниям. Антиоксиданты. Поливитамины. Адаптогены.

На III-м этапе – восстановительном: гепатопротекторы, физиотерапия (ультразвуковые, лазеромагнитные воздействия) на область пораженного органа. Препараты гиалуронидазы (лидаза по 64 ЕД п/к через день № 15). Бификол по 5 доз 2 раза внутрь 3-4 недели. Местное лечение (инстилляции, ванночки, микроклизмы) раствором перфторана, зубиотики в тампонах во влагалище, антиоксиданты.

Женщинам с эктопией шейки матки местное лечение с использованием ферментов, средств усиливающих пролиферацию, а также средств, вызывающих деструкцию тканей выполняются только после получения результатов расширенной кольпоскопии и цитологического исследования мазков из экто- и эндоцервикса, исключающих предраковые состояния.

Терапия атипичных форм хламидиоза представляет сложнейшую проблему, требующую от врача высокой квалификации, обширных знаний в области смежных дисциплин, поскольку назначение даже высокоактивных современных антибактериальных препаратов является неэффективным и, более того ошибочным, приводящим к усугублению течения инфекции. К сожалению, до сих пор единственным доступным методом подтверждения персистирующей формы инфекции остается бактериальная диагностика, позволяющая обнаружить мелкие формы цитоплазматических включений хламидий. Однако, большинство кожно-венерологических учреждений России не имеют возможности использовать этот метод в повседневной практике. В том случае, когда после проведенного комплексного, этапного лечения хламидийной инфекции с использованием антибактериальных препаратов, к которым хламидии природно чувствительны, в контрольных исследованиях вновь обнаруживаются возбудители, назначение повторного курса нецелесообразно. В данных случаях необходима грамотная интерпретация результатов лабораторных исследований. Прежде всего, речь идет о своевременном взятии клинического материала для определения критериев излеченности, причем для каждого метода лабораторной диагностики хламидиоза данные сроки существенно различаются. Немаловажное значение имеют выбор метода диагностики, качество используемых тест-систем, а также уровень профессиональной подготовки исследователя. Таким образом, положительные результаты в контрольных исследованиях регистрируются в следующих случаях:

1. неправильный выбор тактики лечения, в результате чего терапия оказалась неэффективной;
2. несвоевременное определение критериев излеченности;
3. несоблюдение правил взятия и доставки клинического материала для исследования;
4. использование некачественных тест-систем для диагностики;
5. недостаточно профессиональная подготовка исследователя;
6. несоблюдение условий проведения исследования.

Повторный курс антибиотикотерапии показан лишь в случае неполноценного ранее проведенного лечения. При условии полноценного лечения положительные результаты контрольных исследований свидетельствуют о погрешностях в лабораторной службе или о формировании атипичной формы инфекции. Очевидно, что ни в том, ни в другом случае антибиотикотерапия не показана. Обнаружение возбудителя при определении критериев излеченности должно являться предметом обсуждения врача-клинициста и врача-лаборанта с целью выявления возможных ошибок при проведении исследования и выбора методов диагностики для повторных исследований. Диагноз персистирующей хламидийной инфекции один из наиболее сложных и ответственных, устанавливается предположительно (при невозможности бактериологического исследования) на основании:

1. полноценного ранее проведенного лечения;
2. получения положительных результатов в контрольных исследованиях при условии соблюдения всех требований к работе лабораторной службы и техники взятия и доставки клинического материала.

Проблема терапии персистирующей хламидийной инфекции не решена до настоящего времени, и, по мнению большинства исследователей является следствием формирования неадекватного и/или патологического иммунного ответа. Опубликованы результаты исследований, в которых иммунокоррекция выявленных иммунологических нарушений позволила добиться излечения хронической персистирующей хламидийной инфекции без применения антибиотиков в 69% случаев, более того в отдельных случаях отмечено спонтанное излечение от инфекции. Назначение иммунных препаратов без предварительного иммунологического исследования не обосновано, поскольку кроме вышеперечисленных фактов по данным Л.К. Гладковой (1996 г), только у 1/3 больных хламидиозом лимфоциты чувствительны к иммуномодуляторам.

Перспективным представляется применение полиоксидония для лечения атипичных форм урогенитального хламидиоза у больных с выявленными нарушениями иммунологического статуса. Полиоксидоний – новый иммуномодулятор, который является синтетическим сополимером N-окси 1,4 этиленпиперазина, значительно повышает антителообразование, иммунную резистентность организма в отношении различных инфекций. Препарат применялся в виде монотерапии 27 больным, которые были разделены на 2 группы в зависимости от схемы назначения полиоксидония:

1. 6 мг в/м 1 раз в сутки, первые 2 инъекции ежедневно, затем 2 раза в неделю, на курс 7 инъекций;
2. по 12 мг в/м 1 раз в сутки, первые 2 инъекции через день, затем 2 раза в неделю, на курс 5 инъекций.

Результаты лечения в обеих группах были сопоставимы. Отмечалось выравнивание показателей иммунограммы. У 23 больных при повторных лабораторных исследованиях хламидии не были выявлены. У 3-х больных при бактериологическом исследовании выявлена реверсия атипичных хламидийных телец. При этом назначение антибактериальных препаратов позволило достичь стойкого клинико-этиологического излечения. Лишь у одного больного на основании результатов клинико-лабораторных сопоставлений отмечалось сохранение персистирующей формы хламидиоза.

Таким образом, подходы к терапии хронической хламидийной персистирующей инфекции определяются исходным состоянием иммунитета и наличием патогенетических предпосылок к хронизации процесса, т.е. лечение в каждом конкретном случае должно проводиться строго индивидуально.

Недостаточная эффективность этиотропной терапии урогенитального хламидиоза обусловила разработку альтернативных методов лечения, таких как эндолимфатическая антибиотикотерапия, или лечение аппаратом “Уро-Бифон”.

На кафедре дерматовенерологии РМАПО разработан метод эндолимфатической антибиотикотерапии осложненного урогенитального хламидиоза (уретрогенный простатит, аднексит). Вибромицин в дозе 100 мг вводился эндолимфатически через катетеризованный лимфатический сосуд на стопе 1 раз в сутки в течение 7 дней с последующим пероральным приемом данного антибиотика по 100 мг 2 раза следующие 7 дней. Элиминация хламидий при этом наблюдаемых больных (как мужчин, так и женщин) достигала 100%.

Р.М. Загртдинова и соавт. (1999 г) изучали эффективность использования аппарата “Уро-Бифон” при лечении урогенитальной хламидийной инфекции. Аппарат “Уро-Биофон” разработан в России (руководителем группы С. Петренко), излучает модулированные электромагнитные волны нетепловой интенсивности в ближнем ИК-диапазоне. В клинике Республиканского КВД (Ижевск) монотерапия аппаратом “Уро-Бифон” проведена 2150 больным хламидиозом (1030 мужчин и 1120 женщин). Эффективность лечения достигнута в 64%. Авторами отмечается значительное повышение качества антибиотико-терапии в сочетании с лечением аппаратом “Уро-Биофон”. Антибиотики (сумамед, ровамицин, доксициклин) назначались по стандартным схемам. Облучение аппаратом “Уро-Биофон” проводилось по 22-24 с ежедневно – 14 дней, затем 1 раз в 3 дня в течение следующих 14 дней и далее 1 раз в неделю № 6.

Лечение урогенитального хламидиоза у беременных должно быть также комплексным, этапным, с учетом физиологических противопоказаний. В базисной – антибиотикотерапии используются следующие медикаменты: эритромицин по 500 мг 4 раза в сутки в течение 10-14 дней; ровамицин по 3 млн ЕД 3 раза в день в течение 14 дней.

Лечение хламидиоза у детей

Эритромицин – 50 мг/кг массы тела в 4 приема перорально в течение 10-14 дней (для детей с массой тела менее 45 кг). Для детей с массой тела более 45 кг, но не достигших 8 лет эритромицин применяется по схемам лечения взрослых.

Ровамицин – для детей с массой тела более 20 кг по 1,5 млн ЕД на 10 кг массы тела в 2-3 приема в течение 10 дней.

Сроки установления критериев излеченности хламидиоза зависят от выбора метода лабораторной диагностики. При использовании иммунофлюоресцентного метода с моноклональными антителами и ПЦР-метода исследование клинического материала проводят через 4 недели после окончания антибиотикотерапии. При использовании бактериологического метода исследование клинического материала проводят не ранее чем через 10-14 дней. Повторные клинико-лабораторные исследования целесообразны в течение последующих 2-3 месяцев.

В каждом случае проводится обследование полового партнера и при необходимости адекватная терапия. Во время лечения рекомендуются воздерживаться от сексуальных контактов или использовать барьерные средства контрацепции до установления критериев излеченности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клиническая картина хламидийного инфекционного процесса характеризуется скрытым течением и малосимптомностью. Хламидиоз имеет тенденцию к хронизации и появлению таких осложнений, как бесплодие, невынашивание беременности, экстрагенитальные поражения. *Chlamydia trachomatis* часто встречается в ассоциации с другими возбудителями мочеполовых инфекций, такими как, микоплазмы, уреаплазмы, гонококки, трихомонады. В диагностике хламидийного инфекционного процесса первостепенное значение лабораторные методы, позволяющие установить этиологический диагноз.

В настоящей работе изложены современные лабораторные методы выявления хламидийной инфекции. Предел чувствительности и специфичности каждого метода учитывают при оценке показаний для их использования. Одно хламидийное включение, выявляемое микробиологическим методом, соответствует 600 копиям ДНК и 87 иммунофлюоресцирующим частицам. Считается, что изоляция возбудителя в клеточной культуре, также как и определение антигенов с помощью иммунофлюоресцентного и иммуноферментного анализа происходит лишь в 60-70% случаев положительных по молекулярно-биологическим данным (полимеразная цепная реакция).

Недостатком молекулярно-биологических методов является высокая вероятность контаминации ДНК, в результате чего возможно появление ложноположительных результатов. Возможны также ложноотрицательные результаты из-за присутствия в пробах различных ингибиторов ПЦР.

В настоящее время не существует лабораторного метода, позволяющего избежать как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. При диагностике хламидиоза необходима комплексная лабораторная диагностика (ПИФ, ИФА, микробиологический метод, ПЦР), позволяющая выявить возбудителя, определить стадию заболевания, обосновать необходимость назначения антибактериальных препаратов. Изучение иммунного статуса и обоснованное применение иммуномодуляторов позволит повысить эффективность лечения хламидийной инфекции.

Литература

1. Айламазян Э.К. Хламидийная инфекция в акушерстве. – СПб. - 1995.
2. Баткаев Э.А., Липова Е.В. Лечение генитального герпеса и урогенитального хламидиоза. Учебное пособие. – М.: Издательство РМАПО МЗ РФ.-1999.
3. Брагина Е.Е., Орлова О.Е., Дмитриев Г.А. Некоторые особенности жизненного цикла хламидий. Атипичные формы существования (обзор литературы)// ЗППП. – 1998, №1.
4. Гомберг М.А., Соловьев А.М. Иммунологические подходы к лечению больных хронической персистирующей хламидийной инфекцией// ЗППП.-1996, №4.
5. Дидковский Н.А., Малашенкова И.К., Литвиненко Е.Н., Сарсания Ж.Ш., Чистова Л.А. Применение индуктора синтеза интерферона в лечении хронического респираторного хламидиоза. Пособие для врачей. - М.: Ньюдиамед .-1997.
6. Евсюкова И.И., Патрушева Е.Н., Савичева А.М. Актуальные проблемы клиники, диагностики и лечения хламидийной инфекции у новорожденных детей// Акушерство и гинекология. – 1995, №1.
7. Ильинская Г.В., Иванова А.В., Казакова С.И. и др. Диагностика и лечение генитального хламидиоза у детей в амбулаторных условиях// Клинический вестник. – 1997, №2.
8. Кисина В.И., Беднова В.Н., Погорельская Л.В., Васильев М.М., Дмитриев Г.А., Забиров К.И., Наволоцкая Т.И., Трякина И.П. Тактика обследования и терапии больных, инфекционными урогенитальными заболеваниями, осложненными дисбактериозом. Пособие для врачей. - М.-1996.
9. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. –М.: ИИД “Филинь”.-1997.
10. Матвеева Н.К., Файзуллин Л.З., Альварес М.В. и др. Особенности состояния иммунной системы у женщин с воспалительными заболеваниями гениталий хламидийной и вирусной этиологии// Акушерство и гинекология. – 1995, №1.
11. Медицинская микробиология.- Москва: Гэотар Медицина. - 1998.
12. Овчинникова Н.М., Беднова В.Н., Делекторский В.В. Лабораторная диагностика заболеваний, передающихся половым путем. М: Медицина, 1987.
13. Патогенез и терапия инфекций, передаваемых половым путем у женщин. Методические рекомендации. – Свердловск. – 1990.
14. Пособие для врачей. Роль хламидий в патологии урогенитального тракта (диагностика и методы терапии). – Москва. – 1996.
15. Погодин О.К. Хламидийная инфекция в акушерстве, гинекологии и перинатологии. Учебное пособие. – Петрозаводск. –1998.
16. Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний. Материалы 2-ой Всероссийской конференции.- М.- 1998.
17. Применение полимеразной цепной реакции в диагностике инфекционных заболеваний. Методы лечения. Материалы 1-ой Всероссийской конференции.- Сочи. -1996.

18. Прилепская В.Н., Абуд И.Ю. Хламидийная инфекция в акушерстве и гинекологии// Русский медицинский журнал. Г6, №5.
19. Рюмин Д.В. Особенности патогенеза, течения и лечения персистирующего урогенитального хламидиоза у супружеских пар. Дисс. канд. мед. наук.- М.- 1999.
20. Савичева А.М. Урогенитальный хламидиоз и репродуктивное здоровье женщин// Тез. докл. VII Рес. Съезда дерматологов-венерологов. Казань.- 1996.-ч.3.
21. Савичева А.М. Хламидиоз-болезнь молодых. // Материнство.-1996.-№2.
22. Савичева А.М., Башмакова М.А. Урогенитальный хламидиоз у женщин и его последствия. Под ред. Айламазяна Э.К. – Н.Новгород: Издательство НГМА.- 1998.
23. Савичева А.М., Захаревич Н.Н. // “Акт. вопросы физиол. и патологии репродукт. Функции женщин”. Матер. XXV науч. сессии НИИ АГ им. Д.О.Отта РАМН. Спб.-1197.
24. Серов В.Н., Краснопольский В.И., Делекторский В.В. и др. Хламидиоз. Клиника, диагностика, лечение. Методические рекомендации.- М.- 1997.
25. Системная энзимотерапия. Основная информация и клинические исследования. - Санкт-Петербург : Мукус Фарма.- 1995. - 160 с.
26. Цвелев Ю.В., Нуралова И.В., Черниченко М.И., Симчера И.А.// Материалы XXX П научно-практической конференции дерматологов, акушер-гинекологов и урологов.-СПб., 1998.
27. Яковлев С.В. Антимикробная химиотерапия. – М.: АО “Фармарус”.- 1997.
28. Airenn S., Surcel H.M., Alakarpa H., Paavonen P. et al.// Infect. Immun.-1999.-vol.67.-N3.-p.1445-1449.
29. Alaniz Sanchez A. et al.// Ginecol. Obsterrics.-1995.-Sep.-vol.63.-p.377-381.
30. Askienazy-Elbar M.// Inf. Diseases in Obstetr. And Gynecol.-1996.-N4.-p.143-148.
31. Bavoil P.M., Hsia R.-c.// Mol. Microbiol.-1998.-vol.28.-p.860-864.
32. Beatty W.I., Morrison R.P., Byrne G.I.// Microbiol.Rev.-1994.-vol.58.-N4.-p.686-699.
33. Beatty W.L., Belanger T. A., Desai A.A., Morrison R.P. , Byrne G.I.// Infect. Immun.-1994.-vol.62.-N9.-p.3705-3711.
34. Brenner S.E.// Nature.-1995.-vol.378.-p.140-145.
35. Domeika M., Mardh P.-A. //ABC on Chlamydia.- 1993.- p.1-81.
36. Gaydos C.A., Summersgill J.T., Sahney N.H., Ramirez J.A., Quinn T.C.// Infect. Immunn. -1996. – vol.64.-N 5.-p.1614-1620.
37. Grayston J.T. // Cardilogia. -1997. -vol.-42.-p.1145-1150.
38. Gura T.// Science.-1998.-vol.281.-p.35-40.
39. Haeusler G., Lehner R., Sam C., Kainz C.// J. Am. Assoc. Gycol. Laparosc.-1995.-vol.2, suppl.4.-p.18-19.
40. Hayashi M., Nakayama Y., Unemoto T. // FEBS Lett.-1996.-vol.381.-p.174-178.
41. Heinzen R.A., Hackstadt T.// Infect. Immunn.-1997.-vol.65.-p.1088-1091.
42. Hsia R-c., Pannekoek Y., Ingerowski E., Bavoil P.M.// Mol. Microbiol.-1997.-vol.25.-p.351-360.
43. Hueck C.J. // Mol. Biol. Rev.-1998.-vol.62.-p.379-385.
44. Ibba M., Curnow A.W., Soll D.// Trends Biochem. Sci.-1997.-vol.22.-p.39-41.
45. Jamil H.// Proc. Natl. Academ. Sci.U.S.A. - 1996.-vol.93.-p. 1191-1195
46. Juliano R.L., Haskill S.A.// J.Cell Biol.- 1993.- vol.12.- p.577-585.
47. Koonin E.V.// Mol. biol.-1997.-vol.25.-p.619-621.
48. Kubori T.// Science.-1998.-vol.280.-p.602-605.
49. Lawrence R.M., Biller S.A., Fryszman O.M., Poss M.A.// Synthesis.-1997.-vol.1997.-p.553-560.
50. Letain T.E., Postle K.// Mol. Microbiol.-1997.-vol.24.-p.271-278.
51. Longbottom D.// Infect. Immun.-1998.-vol.66.-p.1317-1322.
52. Pace N.R.// Science. -1997.-vol.276.-p.734-738.
53. Phillips D.M., Burillo C.A.// Tissue Cell.-1998.-vol.4.-p.446-52.
54. Ponting C.P., Kerr I.D.// Protein Sci.-1996.-vol.5.-p.914-918.
55. Rasmussen S.J., Timms P.,Beatty P.R., Stephens R.S.// Infect. Immun.-1996.-vol.64 - N6.-p.1944-1949.
56. Ridgway G.L. // FEMS workshop human chlamydial infectins.-Program de Bildiri ozelteri.-Izmir.-1997.-p.38-44.
57. Schmitz E., Nettelbreker E., Zeidler H., Hammer M., Manor E., Wollenhaurt J.// J. Med. Microbiol. -1993.-vol.38.-N4.-p.278-285.
58. R. S. Stephens, S. Kalman, C. Lammel et al.// Science- 1998.- vol.282.- p.754-759.
59. Tatusov R.L., Koonin E.V., Lipman D.J. // Science.-1997.-vol.278.-p.631-636.
60. Thejls H., Rahm V. A., Gnarp J. // Genitorium Med.-1995.-v.71, N 6.-p.370-374.
61. Wagar E.A. et al.// J. Bacteriol. -1995.-vol.177- p.5179-5183.
62. Wilken S.S. // Inf. Dis. In Obstetr. And Gynecology. -1996.-N 4.-p.152-158.
63. Wyrick P.B., Davis C.H., Raulstone J.E., Knight S.T., Choong J. // Clin. Infect.Dis.-1994.-vol.19.-N5.-p.931-936.