

В. А. Исаков¹,
докт. мед. наук

Л. Б. Куляшова²,
канд. мед. наук

Л. А. Березина²
канд. биол. наук

А. В. Сварваль²

¹ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

² Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА УРОГЕНИТАЛЬНОГО ХЛАМИДИОЗА

СООБЩЕНИЕ 3. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИОЗА: АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

(начало см.: *Terra Medica*, № 1, 2012; *Лабораторная диагностика*, № 2, 2012)

Оценке сравнительной чувствительности отдельных методов обнаружения хламидий в клиническом материале посвящено значительное число работ, в которых получены, в общем, сходные результаты. Так, было проведено сравнительное исследование разных методов лабораторной диагностики урогенитального хламидиоза у женщин и мужчин с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами производства НПФ «Литех» (Россия), ПЦР с праймерами «Life Technologies», прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) (Orion), а также культуры клеток (КК). Забор материала осуществляли у женщин из цервикального канала, у мужчин — из уретры. Анализ проведен по двум группам женщин и мужчин: 1-ю составили больные (197 женщин и 50 мужчин) с урогенитальным хламидиозом, установленным в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга, обратившиеся для подтверждения диагноза; 2-ю — пациенты (200 женщин и 203 мужчины), находившиеся на скрининговом обследовании [Шалепо К. В. и др., 2001]. Чувствительность ПЦР по сравнению с другими тестами у женщин была максимальна в обеих группах, а также у мужчин 2-й группы. У мужчин 1-й группы чувствительность ПИФ была выше по сравнению с ПЦР. Возможно, данный показатель по ПЦР и ПИФ может варьировать в зависимости от контингента больных и особенностей инфекционного процесса (активность инфекции, другие факторы в мочеполовой системе, оказывающие влияние на работу тест-систем). Все рассматриваемые тесты имели высокую специфичность у обеих групп больных. Обращает внимание почти полное совпадение результатов по чувствительности и специфичности при использовании ПЦР (*Crypt*) и *nUP(Pd1/Pd2)*.

При изучении частоты идентификации хламидий разными лабораторными тестами (ПЦР, ПИФ и КК) в разном клиническом материале у женщин и мужчин получены следующие данные: чаще всего патоген обнаруживали у женщин при одновременном взятии материала из эндоцервикса и влагилица (в 91 % слу-

чаев из всех положительных результатов), и лишь в 9 % положительные пробы были только в соскобе из уретры. У мужчин (при сравнении соскоба из уретры и первой порции мочи) чаще патоген обнаруживали в соскобе из уретры (примерно в 96 % от всех положительных случаев). Преимущественно положительный результат по моче сочетался с положительным уретральным тестом, и только у единичных пациентов хламидии идентифицировали только в моче. При этом у всех разновидностей клинического материала чувствительность и специфичность ПЦР-теста были высокими (около 100 %) [Шалепо К. В. и др., 2002].

Проведено сравнение эффективности трех методов диагностики хламидийной инфекции — ПЦР, ПИФ и ELISA. Оценивали чувствительность, специфичность, положительные и негативные предсказательные параметры для каждого из этих методов, обследовав образцы цервикального соскоба и крови от 103 женщин репродуктивного возраста. Обнаружено, что ПЦР имел высокую чувствительность ($92,1 \pm 3,4$ %) и специфичность ($95,0 \pm 3,4$ %) и был высоко эффективен в диагностике урогенитального хламидиоза. Позитивные результаты ПЦР из цервикальных соскобов служат надежным доказательством присутствия хламидийной инфекции, в то время как негативные ПЦР-данные не свидетельствуют об отсутствии инфекции во внутренних половых органах женщин с бесплодием. Следовательно, при диагностике урогенитального хламидиоза у женщин репродуктивного возраста рекомендуется одновременное использование двух диагностических методов [Гущин А. Е., Шипулин Г. А., 2007; Исаков В. А. и др., 1999; Arustamian K. K., 2006].

В 2006 г. в Стокгольме (Швеция) был обнаружен генетический вариант *S. trachomatis*, который не выявлялся большинством общераспространенных диагностических тестов. В исходных отчетах было установлено, что порядка 10–13 % всех случаев хламидиоза остаются недиагностированными. Полученные образцы анализировали с помощью теста Cobas

ОБЗОРЫ

TaqMan CT (Roche Diagnostics). Для выявления нового варианта во всех отрицательных анализах дополнительно ставили ПЦР с использованием набора *C. trachomatis* LC MOMP PCR Kit (Qiagen). Положительные анализы были подтверждены методом мутантного специфического ПЦР. Ретроспективно были собраны клинические данные из историй болезни. Из 1 009 протестированных образцов 115 были позитивны на *C. trachomatis*, среди которых 27 (23 %) принадлежали к генетически атипичному штамму, причем 29 % атипичного штамма было выявлено у пациентов 20–29 лет. Полученные данные указывают, что большая часть сексуально активных лиц могут быть инфицированы, несмотря на отрицательный стандартный тест на хламидии, что может способствовать быстрому распространению нового штамма. Следовательно, крайне важно представлять рамки ограничения применяемых диагностических тестов для интерпретации полученных данных [Marions L. et al., 2007].

ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) может улучшить диагностику инфекций, вызванных *C. trachomatis*. Показано, что в качестве альтернативы взятию соскобов из органов мочеполовой системы у женщин и мужчин для лабораторного исследования на хламидиоз можно использовать первую порцию мочи. Предпочтение в данном случае дается молекулярно-генетическим тестам, хотя имеются указания о возможном влиянии присутствующих в моче ингибиторов на их результат [Toye B. et al., 1998; Chen M. Y., Donovan B., 2005; Chernesky M., 2005].

При оценке влияния менструального цикла на достоверность результатов определения хламидий в образцах смывов, первой и средней порций мочи методами лигазной цепной реакции (ЛЦР) (Abott Laboratories), транскрипционной амплификации (Gen-Probe) и ПЦР-ИФА (Daco Diagnostics) частота получения положительных результатов по моче возрастала к концу менструального цикла. Отсутствие аналогичной закономерности при исследовании образцов смывов из влагалища свидетельствовало о том, что в этот период цикла ингибиторы реакций выделялись не с влагалищным секретом, а с мочой. Поэтому при диагностике хламидийной инфекции у женщин предпочтительнее исследовать с помощью тестов амплификации нуклеиновых кислот (ТАНК) не мочу, а смывы из влагалища [Moller J. K. et al., 1999].

В ряде работ есть указание на то, что хламидии у мужчин могут находиться в придатках яичек, семенных пузырьках и предстательной железе, поэтому тестирование только материалов из уретры с помощью ПЦР явилось неполным, так как наблюдали случаи определения возбудителя только в эякуляте или секрете предстательной железы [Сельков С. А. и др., 2001]. Исчерпывающий анализ возможностей разных методов (EIA (Chlamydiazyme), EIA (Microtrak), DNA

probe (PACE 2), PCR (Amplicor), LCR (Abbott)) в разных биоматериалах (в эндоцервиксе у женщин, в уретре и моче у мужчин) также был проведен. Оказалось, что амплификационные тесты были самыми чувствительными по сравнению с ДНК зондовой гибридизацией и ИФА (EIA); примерно одинаковой чувствительностью обладали также амплификационные тесты при взятии материала из эндоцервикса, из мужской уретры, а также при исследовании мочи у женщин и мужчин. ИФА был более чувствительным при исследовании мочи у мужчин, на втором месте — при взятии материала из эндоцервикса. ДНК зондовая гибридизация по чувствительности была примерно одинакова в случае эндоцервикальных соскобов и соскобов из уретры у мужчин.

Все без исключения представленные лабораторные тесты обладали достаточно высокой специфичностью.

Согласно Европейским стандартам диагностики и лечения СТЗ (Европейские стандарты, 2004), идеальный диагностический тест на хламидиоз должен иметь чувствительность более 90 % и специфичность выше 99 % (табл. 1).

Чувствительность КК при использовании материала из шейки матки и уретры варьирует в пределах 40–85 %. Его преимуществом является высокая специфичность, возможность применения в судебно-медицинской экспертизе, однако требует наличия опытного персонала, подходит лишь для небольшого количества образцов, полученных инвазивным способом из шейки матки и уретры.

Уровень чувствительности ПИФ составляет 50–90 % и зависит от опыта персонала и количества ЭТ в пробе материала. Преимуществом является возможность исследования материала, полученного как инвазивным, так и неинвазивным способами (например, моча). Недостатком является то, что метод не подходит для исследования большого количества образцов. Чувствительность ИФА колеблется в пределах 20–85 % и зависит от типа анализа. Преимуществом является возможность тестирования большого количества образцов, быстрота, автоматизация, низкая стоимость. Из недостатков — высокая специфичность имеет место только при подтверждении положительных результатов; метод можно применять только для материала, полученного инвазивным способом (из шейки матки и уретры).

Чувствительность РНК-ДНК-гибридизации составляет 70–85 %. Преимуществом является возможность тестирования большого количества образцов, быстрота, автоматизация, возможность одновременной диагностики сопутствующей гонококковой инфекции. Недостатком считают использование метода только для образцов материала, полученных инвазивными методами.

Таблица 1

Характеристика методов выявления хламидий в биоматериале у женщин и мужчин* [Black C. M., 1997]

Метод/биоматериал	Встречаемость положительного теста, %	Чувствительность, %	Специфичность, %	ПЗПР, %	ПЗОР, %
EIA (Chlamydiazyme)/эндоцервикс	5–22	43–91	96–100	58–100	83–99
EIA (Chlamydiazyme)/мужская уретра	11–15	62–92	92–98	66–95	83–98,6
EIA (Chlamydiazyme)/моча у мужчин	11–34	55–83	94–100	67–100	81–97
EIA (Microtrak)/эндоцервикс	2–24	61–96	96–100	93–100	92–99
EIA (Microtrak)/уретра мужчин	10–15	97–98	97–98	84–91	99
EIA (Microtrak)/моча у мужчин	15–33	78–86	98–100	94–100	77,5–97
DNA probe (PACE 2)/эндоцервикс	3–16	67–96	96–100	52–100	94–99
DNA probe (PACE 2)/уретра мужчин	13	77	99	96	96
PCR (Amplicor)/эндоцервикс	2–10	64–96	96–100	73–100	99
PCR (Amplicor)/моча у женщин	3	92	99	85	99
PCR (Amplicor)/моча у мужчин	9–14	93–96	98–99	82–99	97–99
LCR (Abbott)/эндоцервикс	3–11	87–94	100	100	99
LCR (Abbott)/моча у женщин	6–8	94–96	99–100	99–100	99
LCR (Abbott)/моча у мужчин	14–18	93–98	99–100	98–100	98–99

* Разброс значений зависит от вариации результатов разных авторов

Чувствительность ТАНК составляет 70–95%. Из преимуществ указана высокая специфичность (97–99%), возможность тестирования большого количества образцов, использования как инвазивных (из шейки матки и уретры), так и неинвазивных (моча, пробы материала из вульвы и влагалища) образцов. По мнению D. Taylor-Robinson и соавт. (1998), на сегодняшний день ПЦР и ЛЦР обладают несравнимыми с какими-либо другими методами сочетанием простоты использования и чувствительности, особенно ЛЦР, которая может использоваться для определения хламидий в образцах мочи как у мужчин, так и у женщин [Гущин А. Е., 2003; Гущин А. Е. и др., 2007; Arustamian K. K., 2006].

Особенности жизненного цикла *C. trachomatis*, изменчивость и резистентность возбудителя к разным группам препаратов требуют использования молекулярно-биологических методов диагностики (ПЦР и др.), обеспечивающих ее высокую чувствительность и специфичность, а также позволяющих типировать изоляты по мутациям в геноме, которые могут быть связаны с устойчивостью микроорганизма к определенным антибиотикам [Кубанова А. А. и др., 2004;

Clad A. et al., 2001]. Среди методов антибактериальной терапии в последние годы в качестве альтернативного развивается метод генотерапии, основанный на точечном использовании специальных генетических конструкций, запускающих экспрессию генов цитотоксических белков, обладающих бактериостатическим и бактерицидным свойствами. Проведено исследование *in vitro* и на лабораторных мышах, позволившее с уверенностью говорить о перспективности метода генотерапии хламидиоза урогенитального тракта.

Актуальным является определение и прогнозирование развития резистентности хламидий к антибактериальным препаратам. Несмотря на то, что молекулярные механизмы резистентности к макролидам и тетрациклинам еще до конца не известны, наличие *tet-M*, *tet-O* и *erm*-детерминантов, определяемых с помощью ДНК амплификационных технологий, может служить маркером для выбора оптимальной антибактериальной терапии урогенитального хламидиоза и микоплазмоза [Гущин А. Е. и др. 2007].

В связи с широким использованием антибиотиков в терапии урогенитальных инфекций существенно

ОБЗОРЫ

возросла устойчивость микроорганизмов к препаратам. Авторы определяли у 60 больных наличие *tet-M*, *tet-O*- и *erm*-детерминант (маркеры устойчивости к тетрациклинам и макролидам, соответственно) в ПЦР. Идентификацию выделенных штаммов урогенитальных хламидий и микоплазм проводили с помощью анализа последовательностей гена 16S рРНК. Эффективность лечения хламидиоза, микоплазмоза и уреоплазмоза оценивали по следующим показателям:

- частота отсутствия возбудителя после лечения в группе пациентов, где терапия основывалась на результатах ПЦР-анализа;
- частота отсутствия возбудителя после лечения в группе пациентов, где антибактериальную терапию проводили классическими методами;
- повышение относительной пользы — относительное увеличение частоты благоприятных исходов в 1-й группе по сравнению со 2-й;
- повышение абсолютной пользы — абсолютная арифметическая разница в частоте благоприятных исходов между группами сравнения.

Оказалось, что у женщин с хроническим эндоцервицитом частота обнаружения гена устойчивости к тетрациклинам при хламидиозе составила $41,6 \pm 7,3\%$, уреоплазмозе — $25 \pm 6,3\%$ хламидийно-микоплазменной инфекции — $60 \pm 7,3\%$, хламидийно-уреоплазменной — $33,3 \pm 5,3\%$, микоуреоплазменной — $25 \pm 6,4\%$ случаев. Распространенность *erm*-генов у женщин при хламидиозе составила $14,7 \pm 5,3\%$, уреоплазмозе — $11,9 \pm 4,8\%$, хламидийно-микоплазменной инфекции — $4,7 \pm 3,15\%$, хламидийно-уреоплазменной — $11,9 \pm 4,8\%$, микоуреоплазменной — $7,9 \pm 4,6\%$ случаев.

Распространенность *tet*-генов у возбудителей, выделенных у мужчин с хроническим неспецифическим уретритом, при хламидиозе составила $33,3 \pm 7,9\%$, уреоплазмозе — $44,4 \pm 8,4\%$, хламидийно-микоплазменной инфекции — $16,6 \pm 6,3\%$, хламидийно-уреоплазменной — $22,2 \pm 7\%$, микоуреоплазменной — $40 \pm 8,3\%$ случаев. Распространенность *erm*-генов при хламидиозе составила $17,9 \pm 6,5\%$, уреоплазмозе — $26 \pm 7,4\%$, хламидийно-микоплазменной инфекции — $7,9 \pm 4,6\%$, хламидийно-уреоплазменной — $5,2 \pm 3,75\%$, микоуреоплазменной — $2,6 \pm 2,7\%$ случаев.

Авторы выделили две группы больных на основании контрольных обследований после лечения. Группа А состояла из 45 больных, которых лечили с учетом результатов определения чувствительности возбудителей к антибиотикам. При устойчивости микробов к тетрациклинам назначали Рокситромицин по 150 мг 2 раза в день, на курс 6,3 г — при хламидиозе и хламидийно-микоплазменной инфекции, на курс 3,0 г — при микоплазменных инфекциях; при устойчивости к макролидам — Юнидокс по схеме:

первый прием 200 мг, затем по 100 мг каждые 12 ч, на курс 4,2 г — при хламидиозе и хламидийно-микоплазменной инфекции, 2,0 г — при микоплазменных инфекциях. Группа Б состояла из 7 человек, которых лечили без учета чувствительности возбудителей к антибиотикам. Регресс клинических симптомов отмечен в конце 2-й недели терапии. В группе А клинический эффект был у всех больных, у 37 человек — элиминация возбудителя в ПЦР (82%). В группе Б клинических жалоб не стало у 2 из 7 человек, 4 — пролечены адекватно, 3 — неэффективно и обнаружены хламидии в ПЦР (эффективность лечения 56%), повышение относительной пользы — 46%, повышение абсолютной пользы — 26%. Таким образом, установлено повышение эффективности лечения урогенитальных инфекций при назначении этиотропной терапии с учетом лабораторных данных наличия генов устойчивости к антибактериальным препаратам [Костюк С. А., Хулуп Г. Я., Заборонюк Э. Н., 2004].

Внедренный в практическое здравоохранение метод определения чувствительности возбудителей к антибиотикам (тетрациклинам и макролидам) на основе выявления у возбудителей *tet*- и *erm*-генов в ПЦР по диагностической эффективности сопоставим с традиционным бактериологическим методом (культуральный), но позволяет сократить время проведения исследования до 7 ч вместо 7–10 сут и расширить спектр исследуемых антибиотиков.

В настоящее время актуальным вопросом для клиницистов и лабораторных специалистов является изучение динамики элиминации ДНК микроорганизмов после окончания курса терапии, так как это имеет принципиальное значение использования ПЦР для контроля качества терапии и установления сроков забора материала после окончания курса этиотропного лечения. Известно, что ДНК возбудителей инфекционных заболеваний может присутствовать в тканях и биологических жидкостях определенное время после гибели микроорганизмов, и недеградированные ДНК-мишени могут выявляться методом ПЦР спустя некоторое время после лечения. Показано, что разрушение ДНК наступает не ранее чем через 30 дней после окончания приема антибактериальных препаратов, поэтому первое контрольное исследование методом ПЦР следует проводить через 30–45 дней после завершения терапии [Гущин А. Е., Шипулин Г. А., 2007; Bustin S. A., 2000].

Большое внимание уделяют *серологическим методам* диагностики хламидиоза, которые позволяют свести к минимуму число ложноотрицательных результатов, особенно в случаях хронической персистирующей инфекции, когда отсутствует возбудитель в первичном очаге, а материал из внутренних половых органов недоступен для исследования [Анкирская А. С., 1999]. Выявление персистирующих форм

хламидий прямыми методами может быть затруднено из-за уменьшения экспрессии хламидийных MOMP (major outer membrane protein) и липополисахаридов у этих форм бактерий. Трудности культурального выделения хламидий из пораженных тканей, которые наблюдаются даже при выраженных клинических симптомах, могут соответствовать ситуации *in vitro*, когда хламидии персистируют в виде аномальных неинфекционных форм [Budai I., 2007]. Отсутствие типичных включений в подобных случаях, при которых страдает идентификация липополисахаридов патогена с использованием МФА, по-видимому, принимается за отрицательный результат культуральной диагностики.

Показано, что при болезни Рейтера типичные включения, содержащие хламидии, обнаруживали только в трех случаях, в то время как у 26 из 42 больных присутствовали мелкие цитоплазматические мелковакуолярные включения, характерные для непермиссивных условий размножения при персистенции возбудителя [Шубин С. В. и др., 1986]. Мелковакуолярные включения морфологически идентичны включениям, наблюдаемым при персистенции хламидий *in vitro* [Орлова О. Е. и др., 1986]. Первичное заражение клеток культуры L929 материалом от больных с длительным хроническим течением хламидиоза со скудной клинической симптоматикой или бессимптомным течением приводит к появлению мелковакуолярных включений, расположенных на периферии клеток и в течение 48 ч не трансформирующихся в перинуклеарную зону. Интересно, что у большинства больных, у которых выделены мелковакуолярные включения, характерны изменения иммунного статуса при бессимптомном или малосимптомном течении заболевания [Гомберг М. А. и др., 1996].

Многие авторы предполагают, что для диагностики латентных форм хламидийной инфекции, а также клинических форм, при которых очаг инфекции локализован в местах, недоступных для взятия материала, перспективно применение серодиагностики. Так, при диагностике бессимптомно протекающих сальпингитов, не обнаружили хламидий в соскобе цервикального канала с помощью культурального метода и методов, основанных на определении антигена. Однако у этих больных из ткани маточных труб возбудитель был выделен, причем одновременно у них отмечался высокий титр антихламидийных антител [Сельков С. А. и др., 2001; Кубанова А. А. и др., 2004; Кухтинова Н. В. и др., 2004].

Обсеменение хламидиями слизистой оболочки трубы при отсутствии возбудителя в цервикальном канале возможно при отсутствии клинических симптомов и лапароскопических данных по активной инфекции. По данным С. R. Cohen (2000), распространенность ДНК хламидий в цервикальном канале

у бесплодных женщин достаточно низкая. Напротив, у 30–60 % данного контингента женщин определяются IgG в сыворотке крови, свидетельствующие о хламидийной инфекции. Делается вывод о том, что спустя несколько лет после заражения, жизнеспособные микроорганизмы могут все еще присутствовать в верхнем половом тракте. С применением методов лапароскопии были получены данные об отсутствии соответствия спектра патогенов в маточных трубах и в цервикальном канале, поэтому специфические серологические тесты (IgG, IgA), независимые от местонахождения хламидий, могут служить единственным маркером активной инфекции [Chemesky M., 1997]. При сравнительном исследовании серологического IgM-теста, ДНК и WIF внутриматочных биопсий и цервикальных проб определена целесообразность использования серологии для установления диагноза из-за несоответствия обсемененности возбудителем цервикального канала и внутренних половых органов [Chernesky M., 1997].

Имеются данные о негативации прямых лабораторных тестов при хронизации инфекции, причем предполагается при этом самопроизвольная элиминация возбудителя [Земсков А. М. и др., 2001; Сельков С. А. и др., 2001]. Однако при более продолжительном наблюдении у 35 % мужчин после так называемого «спонтанного излечения» через некоторое время появлялись симптомы заболевания, что послужило поводом предполагать не элиминацию патогена, а превращение инфекции в персистентную форму, особенно после проведенного неадекватного лечения. Известны другие наблюдения об исчезновении хламидий из первичных половых путей при отсутствии лечения, но без элиминации возбудителя [Geisler W. M. et al., 2007].

Чаще всего сегодня для серодиагностики хламидийной инфекции используют разные модификации ИФА. Для этих целей используют диагностические наборы фирм Medac Diagnostica (Германия), Labsystems (Финляндия), Organics (Франция–Израиль) и другие. В зависимости от типа тест-системы возможно как определение суммарных антител, так и их дифференциация на классы: IgA, IgM, IgG. При острой инфекции диагностическое значение имеет обнаружение хламидийных IgM или IgA, либо установление конверсии IgG-антител при их нарастании в 2–4 раза и более.

В лаборатории иммунологии НИИЭМ им. Пастера в 2005–2006 гг. нами было проведено исследование, направленное на изучение эффективности трех классических методов диагностики при разных заболеваниях репродуктивной сферы (табл. 2).

Анализировали результаты обследования 2 641 женщины и 2 410 мужчин 18–45 лет с разными заболеваниями урогенитального тракта и клинически здо-

Этиологическая роль хламидий при заболеваниях репродуктивной сферы

Нозологическая форма	Всего обследованы	ПИФ (+)	Серология (+)	Выделение на культуре клеток
Острые воспалительные заболевания урогенитального тракта у женщин (цервицит, уретрит, острый аднексит, острый сальпингит)	851	136 (16 %)	71 (8,3 %)	18 (2,1 %)
Острые воспалительные заболевания урогенитального тракта у мужчин (уретрит, эпидидимит, острый простатит)	730	168 (23 %)	23 (3,2 %)	92 (12,6 %)
Хронические воспалительные заболевания урогенитального тракта у женщин (хронический аднексит, хронический сальпингит)	1020	204 (20 %)	347 (34 %)	179 (17,5 %)
Хронические воспалительные заболевания урогенитального тракта у мужчин (хронический уретрит, хронический простатит)	940	78 (8,3 %)	118 (12,6 %)	176 (18,7 %)
Бесплодие, эктопическая беременность у женщин	450	134 (29,8 %)	173 (38,4 %)	105 (23,3 %)
Бесплодие у мужчин	380	70 (18,4 %)	54 (14,2 %)	64 (16,9 %)
Синдром Рейтера	143	8 (5,6 %)	25 (17,4 %)	2 (1,4 %)
Бессимптомное течение инфекции у женщин	320	30 (9,3 %)	16 (5,0 %)	2 (0,6 %)
Бессимптомное течение инфекции у мужчин	360	36 (10,0 %)	4 (1,0 %)	7 (1,9 %)
<i>Всего</i>	5 194	864	831	645

ровых. Исследование проводили с помощью следующих методик: ПИФ, выделение на культуре клеток *MsCoу*, ИФА — определение уровня специфических *IgG* и *IgA* и ПЦР. 1-ю группу составили пациенты с острыми воспалительными заболеваниями урогенитального тракта — острыми цервицитами, аднекситами, уретритами, простатитами, эпидидимитами. В эту группу были включены 851 женщина и 730 мужчин. 2-я группа состояла из 1960 человек — 1020 женщин и 940 мужчин с хроническими заболеваниями — аднекситами, сальпингитами, уретритами, простатитами. В 3-ю группу были выделены пациенты с диагнозом бесплодие (450 женщин и 380 мужчин). 4-я была представлена пациентами, которые считали себя здоровыми и обследовались по контакту (320 женщин и 360 мужчин).

В 1-й группе специфический антиген *C. trachomatis* был обнаружен у 16 % женщин и 23 % мужчин. Наличие антител выявлено у женщин в 8,3 %, у мужчин — в 3,2 % случаев. Культуры *C. trachomatis* были выделены у 2 % женщин и 12,6 % мужчин.

При хронических воспалительных заболеваниях у женщин хламидийный антиген выявлен у 20 %, выделено 179 культур (17,5 %), обнаружены специфические антитела в диагностических титрах у 34 пациенток. У мужчин с хроническими уретритами и простатитами положительные результаты ПИФ наблюдали в 8 % случаев, выделено 176 штаммов хламидий, а специфические антитела определялись у 12 % больных. Максимальную частоту выделения хламидийных

штаммов наблюдали у женщин с диагнозом бесплодие (23 %). Антитела обнаружены у 38 % пациенток из этой группы. У мужчин с аналогичным диагнозом хламидии выделены в 17 % случаев, обнаружены антитела в 14 %. В группе людей, обследующихся по контакту или в связи с профилактическим осмотром, специфический антиген выявлен в 9 % проб у женщин и 10 % у мужчин, культуры хламидий выделены в 0,6 и 0,9 % случаев, соответственно.

49 человек были обследованы параллельно ПИФ, ПЦР и культуральным методом. Абсолютное совпадение результатов было установлено в 34 случаях (69,4 %). У 8 пациентов (16,3 %) молекулярно-генетический метод дал положительный результат, антиген обнаружен у одного человека из этой группы, а роста бактерий на культуре клеток не было. При этом один эпизод являлся контролем лечения, а в другом случае имела место инфекция, сочетанная с хроническим трихомонозом. У 7 (14,3 %) человек, наоборот, метод ПЦР не выявил инфекцию, но отмечали рост хламидий на культуре клеток и наличие антигена с помощью ИФА. У одной пациентки из этой группы, возможно, имела место персистенция хламидий, так как выделенные бактерии не накапливались при двукратных пассажах на клетках *MsCoу*. В шести других случаях штаммы хламидий были выделены после второго пассажа на клеточной культуре, в то время как для молекулярно-генетического исследования отбирали материал после первого пассажа. У трех человек этой группы в ПИФ выявлен хламидийный антиген.

Изучение сравнительной эффективности диагностических методов подтверждает необходимость комплексного обследования. Если это невозможно, следует выбирать методы, более информативные для данной нозологической формы. Например, при острых формах заболевания возможно широкое применение ПИФ, в то время как при хроническом течении возрастает эффективность культурального метода и определения специфических антител. Преимущество ПЦР не вызывает сомнений при диагностике хронических бессимптомных форм, которые играют главную роль в распространении хламидийной инфекции.

Состояние местного иммунитета при хламидиозе довольно интенсивно изучается. Так, под наблюдением находились 106 женщин репродуктивного возраста (20–35 лет) с выявленными ИППП (хламидиоз у 59 больных), а также 10 здоровых женщин в качестве контрольной группы. У всех женщин, наряду с общепринятым набором общеклинических методов исследования, а также повторным обследованием на ИППП для выявления смешанных инфекций, определяли концентрацию *sIgA* в секрете цервикального канала. Предварительно проводили стандартизацию метода определения концентрации *sIgA* [Могилевец Т. Л., 2002].

Для изучения роли *sIgA* в местной защите при урогенитальном хламидиозе у женщин предварительно была проведена стандартизация метода определения концентрации *sIgA* в секрете цервикального канала с помощью твердофазного ИФА. В результате проведения данного исследования в группе здоровых женщин были получены результаты, используемые нами в дальнейшем как показатели нормы. При сравнении содержания *sIgA* в цервикальном секрете при различных ИППП без учета фазы менструального цикла достоверных различий выявлено не было. Это объясняется нестабильностью данного биологического субстрата у женщин. Учет функционального состояния организма выявил достоверные различия между показателями *sIgA* у здоровых женщин и женщин с выявленной хламидийной инфекцией (табл. 3). Кон-

центрация *sIgA* в пробе, полученной в первую фазу менструального цикла, при хламидийной инфекции оказалась достоверно ниже ($196 \pm 14,9$ мкг/мл), чем в группе здоровых женщин (499 ± 46 мкг/мл), а также при прочих ИППП ($387 \pm 7,2$ мкг/мл, $p < 0,05$).

Исследование цервикального секрета в экссудативную фазу достоверных различий между указанными группами не выявило. В связи с этим, целесообразнее забор материала проводить в первую фазу менструального цикла. При сравнении содержания *sIgA* в первую фазу менструального цикла при некоторых вариантах микст-инфекций с участием хламидий выявлена наиболее низкая концентрация *IgA* при сочетании хламидийной инфекции и инфекции, вызванной вирусом простого герпеса ($123 \pm 27,7$ мкг/мл). Достоверно выше в сравнении с данным вариантом сочетания концентрация *IgA* при монохламидиозе ($202 \pm 16,9$ мкг/мл), а также при хламидийно-уреаплазменной инфекции (218 ± 44 мкг/мл) и хламидийно-трихомонадной ($180 \pm 21,2$ мкг/мл), $p < 0,05$. Эти данные позволяют сделать вывод, что при хламидийной инфекции, в том числе в составе сложного паразитоценоза, иммунобиологическая реактивность цервикального секрета страдает более выражено, чем при других инфекциях урогенитального тракта [Могилевец Т. Л., 2002].

Известно, что одним из основных моментов в жизненном цикле хламидий является процесс адгезии на мембране клетки-хозяина [Stamm W. E., Holmes K. K., 1984]. Основная роль *sIgA* заключается в предотвращении этого процесса. В связи с этим, низкая концентрация *sIgA* при хламидиозе может объясняться тем, что *sIgA*, препятствуя адгезии хламидий к клеткам эпителия, со временем расходуется. Это приводит к беспрепятственному внедрению возбудителя в клетку и может способствовать развитию восходящей инфекции. Подтверждением этому служит снижение содержания *sIgA* при отсутствии возбудителя во входных воротах инфекции, но его наличии в вышележащих органах, подтверждаемое результатами серологических исследований.

Таблица 3

Концентрация *sIgA* с учетом фазы менструального цикла

Фаза цикла	Период	Содержание <i>sIgA</i> в мкг/мл, $M \pm m$			$p < 0,05$
		здоровые, $n = 10$	больные хламидиозом, $n = 59$	больные прочими ИППП, $n = 39$	
		1	2	3	
I	До лечения	499 ± 46	$196 \pm 14,9$	$387 \pm 7,2$	$2 < 1,3$
	После лечения	—	$224 \pm 11,9$	$234 \pm 26,9$	
II	До лечения	353 ± 120	$192 \pm 9,7$	289 ± 78	
	После лечения	—	$210 \pm 11,4$	$234 \pm 26,9$	

Эти данные согласуются с мнением о том, что местный иммунитет может нейтрализовать инфекционную активность *S. trachomatis*, поскольку уровень секреторных *IgA* в цервикальной слизи обратно пропорционален количеству хламидийных тел в половых путях [Коэн Р. К., Брунем Р. К., 1999]. При сравнительном анализе динамики показателей секреторного иммунитета при эффективном и неэффективном лечении (табл. 4) выяснилось, что содержание *sIgA* в секрете цервикального канала при эффективной терапии достоверно повышается со $174 \pm 14,6$ до $234 \pm 15,2$ ($p < 0,05$). При неэффективной терапии содержание *sIgA* продолжает снижаться ($p > 0,05$). Однако обращаем внимание на то, что восстановление уровня *sIgA* идет медленно по причине иммуносупрессивного действия антибактериальной терапии, и показатели *sIgA* длительно остаются на низком уровне даже при условии эффективной терапии.

В ходе исследования не выявлено корреляционной зависимости между содержанием *sIgA* в цервикальном секрете и сывороточным неспецифическим *IgA* ($r = 0,06$, $p < 0,05$), а также с другими показателями общего иммунного ответа, что указывает на преимущественно локальный синтез *sIgA* и самостоятельное его значение в иммунной защите. Обнаруженная положительная корреляционная связь между *sIgA* цервикального секрета и специфическим антихламидийным сывороточным *IgA* ($r = 0,72$; $p < 0,05$) обусловлена, очевидно, тем, что наиболее высокие показатели специфического иммунного ответа свойственны острой фазе инфекционного процесса, при которой уровень *sIgA* снижается меньше. Таким образом, уровень *sIgA* в секрете цервикального канала отражает напряженность местных факторов иммунной защиты, характеризует течение инфекционного процесса и может использоваться в качестве дополнительного критерия оценки эффективности терапии [Архипов Г. С., Могилевец Т. Л., 2001; Могилевец Т. Л., Чеботкевич В. Н., 2001; Могилевец Т. Л., 2002].

Имеются данные о высокой частоте обнаружения местных *IgA* к хламидиям при хроническом простатите по сравнению с другими лабораторными показателями. Высказывается предположение, что выработка секреторных *Ig* предшествует появлению сывороточных *IgA* и что последние — производные секреторных иммуноглобулинов [Tsunekawa T. et al., 1991]. Специфические *IgG* намного реже по сравнению с *IgA* определялись в эякуляте, однако достаточно часто в сыворотке крови; по *IgA* наблюдается обратная тенденция. Имеются данные о том, что у 46–75 % мужчин с противохламидийными антителами класса А в сперме в сыворотке указанная разновидность

Динамика показателей *sIgA* в первую фазу менструального цикла при эффективном и неэффективном лечении хламидиоза

Таблица 4

Показатель	Период	Содержание <i>sIgA</i> в мкг/мл, $M \pm m$	
		при эффективном лечении, $n=34$	при неэффективном лечении, $n=11$
		1	2
<i>IgA</i>	До лечения	$174 \pm 14,6$	$244 \pm 61,4$
	После лечения	$234 \pm 15,2$	$196 \pm 32,4$
$p < 0,05$	—	$1 < 2$	—

иммуноглобулинов не обнаруживалась [Eggert-Kruse W. et al., 2003]. Появление противохламидийных антител часто сочетается с антителами к сперматозоидам, что приводит к снижению подвижности последних и формированию бесплодия. Это связано с выработкой перекрестных аутоантител к *Chps60* и *hps60* сперматозоидов. Однако имеются противоположные данные о том, что наличие секреторных *IgA* в эякуляте не приводит к нарушению спермограммы [Bollmann R. et al., 2001]. Не доказана корреляция между наличием диагностических титров секреторных *IgA* к хламидиям и обнаружением самого возбудителя в половых путях у мужчин другими лабораторными тестами (культуральным, ПЦР и ИФА) [Gdoura R. et al., 2001]. Необходимо отметить, что установлена связь между обнаружением секреторных *IgA* у мужчин и трубным бесплодием у половых партнеров [Gdoura R., 2001], а также между их наличием у бессимптомных бесплодных мужчин и повышенным риском инфицирования половых партнеров [Penna V. S. et al., 2001]. Обобщая вышеизложенное, следует отметить, что вопрос о целесообразности и возможности поиска *IgA* в цервикальном секрете и сперме еще нуждается в дальнейшем изучении.

Как указывалось выше, состояние местного иммунитета при урогенитальном хламидиозе имеет диагностическую и прогностическую ценность. Так, снижение *sIgA* (секреторного *IgA*) в секрете цервикального канала женщин при урогенитальном хламидиозе и нормализация этого показателя после терапии позволяет использовать данный тест для контроля эффективности лечения. Широко используется определение титра антител *IgG* в ИФА. Разовый результат, полученный таким образом, практически неинформативен, так как не предоставляет возможности исключения анамнестических титров, которые могут быть как после встречи с возбудителем, не закончившейся инфекцией, так и после лечения. Титры антител могут держаться 6 мес и более. На титр *IgG* можно ориентироваться лишь в случае исследования

Таблица 5

Результаты сравнительного исследования клинических материалов больных с хламидийным простатитом

Число больных	Количество больных											
	с диагностическими титрами хламидийных антител						с диагностическим титром антител <i>IgA</i> в СПЖ	выявленных методом ПИФ		выявленных культуральным методом		
	<i>IgA</i>		<i>IgM</i>		<i>IgG</i>							
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
97	24	24,7	26	26,8	38	39,7	44	45,3	42	43,2	45	46,4

парных сывороток. Если происходит положительная сероконверсия (увеличение титра антител через 2 нед в 4 раза и более), то можно говорить о развитии инфекции. И наоборот, снижение титра антител в динамике свидетельствует о тенденции к выздоровлению или санации от хламидий.

Перспективнее определение в диагностических титрах хламидийных антител *IgA* ($\geq 1/8$) и *IgM* ($\geq 1/32$), которые свидетельствуют о текущей инфекции, но могут и отсутствовать в связи со слабой иммуногенностью хламидий и нарушениями иммунитета [Нуралова И. В. и др., 2007]. Метод непрямой иммунофлюоресценции (НПИФ) имеет равную с ИФА чувствительность и специфичность, но не поддается автоматизации и связан с субъективной оценкой результатов анализа. Однако именно он позволил авторам в сравнительном исследовании показать высокую информативность обнаружения специфического (хламидийного) *IgA* в секрете предстательной железы (СПЖ). Обнаружение *IgA* в диагностических титрах ($\geq 1/8$) полностью совпало с выделением хламидий культуральным методом. Проведена оценка результатов определения титров специфических хламидийных антител в сыворотке крови и СПЖ в сопоставлении с обнаружением хламидий в ПИФ и культуре клеток (табл. 5). Наиболее высокая корреляция обнаружена при обследовании больных с хламидийным простатитом между титром хламидийных антител к

IgA в СПЖ и выделением хламидий на культуре клеток [Нуралова И. В. и др., 2007].

Таким образом, при диагностике урогенитального хламидиоза предпочтительными являются ПИФ и культуральный метод, тогда как для подтверждения хронического хламидийного простатита целесообразно использовать НПИФ (или ИФА) при определении *IgA* в СПЖ.

Оценка эффективности лечения. Первый контроль — сразу после завершения лечения (исключая иммунологические методы диагностики возбудителей). У женщин контрольные исследования проводятся во время трех ближайших менструальных циклов. Также 3 мес на клинко-лабораторном контроле наблюдаются их половые партнеры.

Иммунологические методы диагностики проводят через 4 нед после окончания лечения, далее по показаниям. Необходимо рекомендовать воздержание от половых контактов до завершения лечения и получения отрицательных результатов. Через несколько месяцев после окончания терапии, во избежание случаев реинфекции, целесообразно повторное исследование лиц группы риска (подростки, молодые женщины). При наличии полового контакта с больным с хламидийной инфекцией в течение предшествующих 60 сут проводить обследование и лечение [Герасимова Н. М., 2001; Яковлев В. М., Новиков А. И., 2000].

Список литературы см. на сайте www.terramedica.spb.ru