

© Коллектив авторов, 2013
УДК [616.98:579.88.211]-071

В. А. Исаков^{1,2},
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 2. Современные методы диагностики хламидийной инфекции: аналитический обзор (начало см. в № 1, 2012)

В статье дана классификация методов диагностики хламидиоза. Подробно рассмотрены иммуноморфологические, культуральный и молекулярно-биологические методы лабораторной диагностики хламидиоза.

Ключевые слова: *методы диагностики хламидиоза, прямая иммунофлюоресценция, полимеразная цепная реакция*

Классификация методов диагностики хламидиоза. Лабораторная диагностика урогенитального хламидиоза имеет первостепенное значение в связи с тем, что клинические проявления инфекции непатогномичны и широко распространены атипичные и бессимптомные формы заболевания. Для удобства методы диагностики хламидиоза можно разделить на несколько групп [1–3]:

1. Методы, направленные на выявление возбудителя, его антигенов или нуклеиновых кислот:

а) микроскопические методы: микроскопия окрашенных мазков; прямая иммунофлюоресценция (ПИФ) или непрямая иммунофлюоресценция (НИФ);

б) культуральный метод;

в) индикация антигенов: реакция иммунофлюоресценции; иммунохроматография;

г) индикация нуклеиновых кислот: ДНК-гибридизация и амплификация (полимеразная цепная реакция (ПЦР), лигазная цепная реакция (ЛЦР) и т. д.).

2. Методы, направленные на выявление антител к возбудителю:

а) поиск антител в сыворотке крови;

б) поиск антител в сперме.

Имеются другие классификации лабораторных методов диагностики хламидиоза (табл. 1).

Исследуемым материалом при диагностике урогенитального хламидиоза с помощью методов, направленных на выявление возбудителя,

являются соскобы со слизистой оболочки уретры, цервикального канала, моча. Для диагностики хламидиоза важным является техника взятия материала [5].

Выявление специфических включений в мазках, окрашенных по Романовскому–Гимзе, был главным методом диагностики трихомониаза. Метод прост, доступен, однако недостаточно чувствителен. По данным [6], при урогенитальном хламидиозе частота обнаружения телец Гальберштедтера–Провачека в соскобах слизистой оболочки уретры и цервикального канала обычно не превышает 10–12%. Использование в качестве предварительной диагностики метода окраски мазков по Папаниколу невозможно из-за большого количества ложноположительных результатов. В связи с этим, несмотря на простоту и доступность, этот метод не может решить проблему диагностики хламидиоза.

В настоящее время не существует лабораторного метода, который позволил бы избежать как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. Необходимо учитывать предел чувствительности и специфичности каждого метода.

Важна комплексная лабораторная диагностика, чтобы выявить возбудителя, определить стадию заболевания, обосновать необходимость назначения антибактериальных препаратов. Таким образом, «золотой стандарт» в настоящее время — сочетание методов с использованием сертифицированных диагностических реагентов и тест-систем [3, 7, 8].

Имуноморфологические методы основаны на обнаружении антигенных субстанций хламидий в эпителии и других тканях путём обработки препаратов специфическими антите-

Валерий Александрович Исаков
e-mail: issakov45@mail.ru

Таблица 1

Методы лабораторной диагностики хламидиоза [4]

| Методы | Цель исследования | Используемые методические приемы |
|---------------------------|---|---|
| Морфологические | Оценка цитологической картины и морфологии клеток в очаге воспаления, а также сопутствующей микрофлоры. Выявление морфологических структур возбудителя. Выявление нейтрофильно-гистиоцитарно-макрофагальной реакции | Окраска препаратов по Романовскому-Гимзе, окраска по Маккиавелю, окраска раствором Люголя |
| Культуральные | Выделение возбудителя в культуре клеток <i>in vitro</i> | Посев исследуемого материала на перевиваемые культуры клеток, куриные эмбрионы. Заражение лабораторных животных |
| Иммунологические | Выявление антигенов хламидий и хламидийных антител | ИФА, РИФ, ПИФ, НИФ, вироиммунотест, иммунохроматографические методы, РСК, РНГА, РНИФ и др. |
| Молекулярно-биологические | Выявление ДНК и РНК возбудителя | ПЦР, АЦР |

лами. ПИФ является важным методом диагностики урогенитального хламидиоза в связи с относительной дешевизной и доступностью. Для его реализации первоначально использовали препараты на основе поликлональных антител, меченных флюорохромом. Однако максимальной чувствительности и специфичности удалось достигнуть только при замене поликлональных антител на моноклональные. При этом в разных препаратах используются моноклональные антитела как против липополисахаридных, так и против белковых антигенов хламидий. Во многих отечественных («НИАРМЕДИК» при НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи) и зарубежных фирмах (США: Syva, Difco, Kallastad, Bartels, Boots Celltech, California Integrated Diagnostics; финская фирма Orion Diagnostica) в тест-системах используются моноклональные антитела к липополисахаридному антигену *C. trachomatis*.

ПИФ, как правило, позволяет выявить элементарные тельца хламидий, реже — ретикулярные тельца. Так, по данным [9], с помощью препарата Chlamitest (Orion Diagnostica) ретикулярные тельца удается выявить не более чем в 5% случаев. Не исключено, что вероятность их выявления меняется в зависимости от стадии развития патологического процесса, и их обнаружение имеет диагностическое значение, однако этот вопрос нуждается в специальном изучении.

Данные о чувствительности ПИФ при исследовании препаратов из урогенитального тракта и при использовании моноклональных антител крайне противоречивы. Чувствительность составляет 90–100% при специфичности 85–100%. Лучшие результаты по окрашива-

нию элементарных телец хламидий получены при использовании реагентов фирм Syva Micro Trak и Kallastad. Общая чувствительность этого метода с использованием Micro Trak-теста составляет 67,5–96,3%, а специфичность — 70,9–99,5%. Таким же высокочувствительным и специфичным является реагент Chlamyset фирмы Orion Diagnostica — соответственно, 77,5 и 85,7% [10–12].

Некоторые авторы указывают на опасность как гипер-, так и гиподиагностики при применении ПИФ [13]. Опасность гипердиагностики обусловлена субъективным характером учёта результатов ПИФ. Последние оценивают по характеру специфического свечения хламидий в люминесцентном микроскопе. При этом учитывается цвет светящегося объекта, его форма, размер и интенсивность свечения. Критерии оценки могут незначительно изменяться в инструкциях по применению конкретных препаратов. Как правило, результат может считаться положительным при обнаружении от 5 до 10 элементарных телец в исследуемом объекте. Отрицательный ответ выдается после микроскопии препарата в течение 3 мин [14–16].

Причины неспецифического свечения в ПИФ многочисленны: некачественный забор и обработка материала; некачественная установка и настройка аппаратур; наличие перекрестных реакций с родственными антигенами других бактерий [17].

При обследовании в 1997–2003 гг. (Чехия) методом ПИФ 6126 образцов от пациентов на хламидиоз лишь в 14,4% были получены положительные результаты [Förstl M. et al., 2005]. Среди них 14,1% положительных результатов — в мочеполовом тракте у женщин и 15,2% у муж-

чин, 14,1% — из конъюнктивальных образцов и 3,7% — из нижнего респираторного тракта. С учетом деления пациентов по возрасту на десятилетия, положительные результаты женщин составили 0–13–14,4–13,9–13,9%, а в возрасте более 60 лет — 13,9%. У мужчин, соответственно, 0–21,4–15,1–16–13,4%, в возрасте более 60 лет — 16%, то есть максимальное количество положительных результатов было выявлено в образцах от мужчин 20–30 лет, что в два раза выше по сравнению с женщинами того же возраста. Вывод: ПИФ можно применять для обнаружения *C. trachomatis*, однако для контроля или подтверждения спорных данных необходимо применение второго метода, например ПЦР.

Проведено сравнение эффективности трех методов диагностики хламидийной инфекции — ПЦР, ПИФ и иммуноферментного анализа (ИФА) [18]. Оценивали чувствительность, специфичность, положительные и негативные предсказательные параметры для каждого из этих методов, обследовав образцы соскоба со слизистой оболочки цервикального канала и крови от 103 женщин репродуктивного возраста. Обнаружено, что ПЦР имел высокую чувствительность (92,1%) и специфичность (95%) и был высоко эффективен в диагностике уrogenитального хламидиоза. Положительные результаты ПЦР из соскоба со слизистой оболочки цервикального канала служат надежным доказательством присутствия хламидийной инфекции, в то время как негативные данные не свидетельствуют об отсутствии инфекции во внутренних половых органах женщин с бесплодием. Следовательно, при диагностике уrogenитального хламидиоза у женщин репродуктивного возраста рекомендуется одновременное использование двух диагностических методов [18].

Реакцию иммунофлюоресценции в последнее время широко применяют в России. Согласно приказу МЗ РФ № 286 от 07.12.93 г. «О совершенствовании контроля за заболеваниями, передающимися половым путем», этот метод рекомендован в качестве основного для диагностики хламидиоза в условиях практического здравоохранения [4, 19, 20]. В то же время, в практике здравоохранения ряда стран для постановки диагноза хламидиоза требуется подтверждение результата культуральным или иным методом, что связано со значительным риском гипердиагностики.

Методы ИФА основаны на обнаружении растворимого антигена хламидий в исследуемых клинических пробах (VIDAS Chlamidia, BioMerieux, Франция; Pathfinder® Chlamydia Microplate, Sanofi Diagnostics Pasteur, Франция; Chlamydia Ag EIA KIT, LabSystem, Финляндия). Для проведения теста используют, преимущественно, наборы реактивов Chlamydiazyme лаборатории фирмы Abbott (США) и Chlamydia-antigen ELISA фирмы Medac Diagnostica (Германия), основанные на методе твердофазного ИФА для определения антигенов хламидий [10, 21]. Чувствительность и специфичность ИФА, по данным разных авторов, составляет, соответственно, 65–78 и 100% [22]. Важно отметить, что отдельные модификации ИФА, например VIDAS Chlamidia, позволяют использовать мочу в качестве исследуемого материала. В случаях высокого содержания антигена, совпадение результата с культуральным исследованием, по данным некоторых авторов, составляет более 90%. Вместе с тем, при низком содержании антигена (количества инфекционных единиц) чувствительность метода резко снижается до 60% и ниже [23].

Для диагностики *C. trachomatis* предлагается использовать новый автоматизированный метод для подготовки образцов мочи — BUGS'n BEADStrade mark STI (VnB STI), после которого применяли конечный анализ BDProbeTecttrade mark ET и сравнивали его с полным анализом BDProbeTecttrade mark ET для выявления *C. trachomatis* в 1002 образцах мочи. Система VnB STI представляет собою новую концепцию при приготовлении образцов с использованием магнитов, когда сначала бактерии выделяются из материала, полученного от пациента, после чего происходит очистка нуклеиновых кислот возбудителя с применением магнитных бус. Применение обоих методов дало сходную чувствительность и специфичность. Использование метода VnB STI для подготовки образцов не препятствовало проведению BDProbeTecttrade mark ET теста, тогда как применение подготовки ДНК BDProbeTecttrade mark ET вручную в 1,8% случаев делало невозможным дальнейшее проведение теста. Новый автоматизированный метод для выделения *C. trachomatis* из анализов мочи позволяет избегать спорных данных и повышает ошибкоустойчивость систем амплификации нуклеиновых кислот [24].

Отдельные авторы считают, что по результатам серологических исследований сложно сделать вывод о наличии активной хламидий-

ной инфекции, так как антитела появляются не сразу после инфицирования, их колебания не всегда коррелируют с клиническим статусом больного, могут сохраняться длительное время после эрадикации *C. trachomatis*. Это обстоятельство лишает данный метод юридической силы. Применение может носить лишь вспомогательный или дополнительный характер. Но возможно использование данного метода при одновременном исследовании к родоспецифическому ЛПС *C. trachomatis* и БТШ 60 (*HSP 60*) хламидий [2].

Удобны для практического применения иммуно-хроматографические технологии. Такие тест-системы разработаны английской фирмой «Unipath» и позднее французской фирмой «Veda Lab». Сущность метода состоит в том, что при внесении в специальный планшет образца клинического материала, предположительно содержащего антигены *C. trachomatis*, происходит взаимодействие с моноклональными антителами, ковалентно связанными с цветным латексом. Комплекс антиген-антитело-латекс движется по полоске нитроцеллюлозного фильтра, постепенно формируя окрашенную зону в случае положительного результата. Продолжительность исследования — всего около 30 мин. При необходимости метод может быть реализован в кабинете лечащего врача. По оценкам фирмы «Unipath», выпускаемая ими система Clearview Chlamidia MF характеризуется чувствительностью в 77,8 % случаев, специфичностью в 97,5 %, прогностической значимостью положительных результатов в 86,6 %, прогностической значимостью отрицательных результатов в 95,4 % по сравнению с культуральным методом. Л. Б. Борисов [25] оценивает чувствительность этого метода в 80 %, а специфичность — в 100 %. По данным [17], эффективность иммунохроматографического метода ниже, чем ПЦР и РИФ: результаты теста Clearview и ПЦР совпадали в 75 % случаев, Clearview и РИФ — в 89 %, Chlamy-Ches-1 (Франция) и РИФ — в 60 %. Другим недостатком иммунохроматографических методов является высокая стоимость диагностических наборов.

Культуральный метод. Во многих лабораториях мира, начиная с 1965 г., для выделения хламидий начали использовать культуральный метод. Наибольшая чувствительность метода по сравнению с другими, применяемыми на то время методами, была отмечена многи-

ми исследователями [19, 26]. На протяжении долгого времени культуральный метод был общепризнанным «золотым стандартом». III Европейское совещание по хламидиям (2000) пересмотрело этот вопрос, так как многие исследователи указывали на положительные результаты ИФА и ПИФ при отрицательном результате культурального метода. Это может быть связано с присутствием в материале некультивируемых форм хламидий. Сегодня в качестве «золотого стандарта» рекомендуют использовать сочетание культурального метода и методов генной диагностики, то есть подтвердить отрицательный результат культурального метода с помощью ПЦР, ЛЦР или рибосомальной РНК амплификации (ТМА — transcription-mediated-amplification).

Для выделения хламидий чаще всего используют культуру клеток *McCoy*, культуру мышинных фибробластов *L-929* или *HeLa-229*. Эффективность метода увеличилась при использовании обработки клеточных культур (*L-929*, *McCoy*, *HeLa-229*) циклогексимидом и центрифугирования инокулята на монослой [27]. Метод выделения хламидий на культуре клеток высокочувствителен и специфичен. Однако были отмечены пределы чувствительности данного метода: он не позволяет установить диагноз примерно у 10–15 % мужчин с хламидийной инфекцией уретры и у 20–25 % женщин с хламидийными цервицитами [28]. Главными достоинствами культурального метода диагностики являются высокая эффективность, специфичность, возможность определения чувствительности выделенной культуры к антимикробным препаратам. Его недостатками являются техническая сложность поддержания клеточных линий, трудоемкость метода и получение результатов на 3–7-е сутки. В связи с вышеизложенным, его реализация невозможна в большинстве учреждений практического здравоохранения.

Молекулярно-биологические методы.

Успехи в области молекулярной биологии привели к появлению методов, основанных на определении специфических для *C. trachomatis* последовательностей олигонуклеотидов ДНК или рибосомальной РНК. Первым был апробирован метод ДНК-гибридизации [29]. ДНК-гибридизация *in situ*, использованная для исследования соскобов со слизистой оболочки цервикального канала и заднего прохода, была

сходна по результатам с заражением клеточных культур. В последние годы тесты амплификации нуклеиновых кислот, к которым относятся ПЦР, ЛЦР, методы SDA (single strand displacement), ТМА, доказали свое превосходство над более ранними тестами по степени чувствительности. Кроме того, в стадии разработки находятся такие методы молекулярной амплификации, как метод с применением *Q*-репликазы, копирующей РНК-матрицу микробов, и метод усиления сигнала с использованием ДНК.

В основе ЛЦР лежит лигирование олигонуклеотидов, комплементарных определенной ДНК-мишени. В методе используется способность ДНК-лигазы соединять две пары комплементарных олигонуклеотидов после их гибридизации с последовательностями мишени *in vitro*. Его можно применять для анализа уретральных, эндоцервикальных образцов и проб мочи. Ряд авторов отмечают, что ЛЦР по специфичности может превосходить ПЦР для диагностики урогенитальной хламидийной инфекции [30–33].

Транскрипционная амплификация основана на применении амплификации посредством транскрипции и гибридизационной защиты для определения рибосомной РНК *S. trachomatis* в уретральных (эндоцервикальных) образцах и пробах мочи у мужчин и женщин. К недостаткам метода относят высокую стоимость, необходимость специального оборудования и специальных помещений, качественную оценку, которая определяет только наличие или отсутствие возбудителя, большой риск загрязнений между образцами и реагентами [34, 35].

Чаще всего для диагностики хламидиоза в нашей стране сейчас используют ПЦР. Разными авторами для постановки этой реакции были предложены разные праймеры. Наиболее известные из них: праймеры с нуклеотидными последовательностями, комплементарными гену, определяющему структуру большого белка внешней мембраны (*OMP1*), праймеры к гену 16S рибосомальной РНК и праймеры, комплементарные гену специфической криптической плазмиды хламидий. Из них более эффективными для диагностики хламидиоза являются праймеры к криптической плазмиде [36].

Главным достоинством методов генной диагностики является высокая чувствительность. Тестирование *in vitro* разных разведений штаммов *S. trachomatis* показывает, что амплифика-

ционные методы дают положительный результат при наличии от 1 до 10 микроорганизмов, культуральный метод — от 5 до 100, метод флюоресцирующих антител — от 10 до 500, ДНК-гибридизации — от 500 до 10 тыс., методы определения антигенов — от 5 до 100 тыс. ПЦР-диагностика позволяет определять возбудителя заболевания независимо от места локализации инфекционного процесса, а также выявлять патоген в период так называемого «серологического окна», — то есть в промежутке между моментами инфицирования организма и появления антител в определяемых количествах. В последние годы для определения активности хламидийного процесса довольно успешно начали применять ПЦР в режиме реального времени — *real-time* ПЦР (РТ-ПЦР) [37–40]. Метод РТ-ПЦР подразумевает одновременное проведение двух процессов — собственно ПЦР и детекцию ДНК при помощи флюоресцентных зондов.

Можно выделить наиболее важные направления развития ПЦР-лабораторий:

- упрощение процедуры анализа;
- сокращение времени исследования;
- снижение риска контаминации.

Существует четыре метода детекции результатов ПЦР: гель-фильтрация, гибридизационно-ферментный анализ (ГиФА), флюоресцентная детекция результатов после проведения реакции (FLASH) и флюоресцентная детекция во время проведения реакции (*real-time* PCR) [37, 38]. Оптимальными для лаборатории являются флюоресцентные методы, детекцию результатов амплификации производят с помощью измерения флюоресценции в закрытой пробирке, что минимизирует вероятность контаминации. Целесообразно использовать РТ-ПЦР для количественной оценки возбудителя при выборе противовирусной терапии [37].

Предлагается новый количественный РТ-ПЦР-метод для обнаружения ДНК *S. trachomatis* на основе дуплексного праймера Скорпион [41]. Наиболее важной особенностью метода является внутримолекулярные контакты между зондом и ДНК-мишенью. Показана высокая чувствительность (количественная динамическая шкала от 25 до 109 геномных копий на реакционную смесь), специфичность, воспроизводимость внутри одного и разных экспериментов. Система Скорпион (США) способна достоверно обнаружить искомую ДНК в 98,6 % без про-

ведения повторных тестов. Авторы обследовали системой Скорпион 81 позитивный и 67 негативных образцов, которые ранее были верифицированы стандартной тест-системой (Roche Amplicor PCR assay, Abbott LCR kit). Среди заведомо позитивных образцов 79 (97,5 %) были выявлены как позитивные (31–227,648 копий/мкл, $M=4219$ копий/мкл), но ни разу среди заведомо негативных образцов. Предложенный быстрый количественный РТ-ПЦР-метод может улучшить диагностику инфекций, вызванных *C. trachomatis*.

В сентябре 2007 г. в США была опубликована крайне интересная работа, в которой авторы предложили быстрый и чувствительный метод генотипирования для диагностики бактериальных и вирусных инфекций верхних дыхательных путей на основе стандартных методов амплификации и гибридизации, с применением электрохимической детекции (ЭХД). Метод был разработан для обнаружения четырех бактериальных патогенов (*Bordetella pertussis*, *Streptococcus pyogenes*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*) и девяти вирусных (аденовирус 4, коронавирус OC43, 229E и НК, вирус гриппа А и В, парагриппа типа 1, 2, 3, а также РС-вирус). Этот новый диагностический чип может служить основой для проведения полностью автоматизированной диагностики, крайне гибкой и модифицируемой в зависимости от задач исследования, с возможностью определения дополнительных возбудителей. Большое количество зондов на гибкой основе позволяет сначала протестировать их эмпирически с тем, чтобы отобрать наиболее специфические для последующего прицельного анализа. Авторы показали высокую чувствительность и специфичность нового метода, достаточных для мультиплексного анализа [42]. Этот же метод ЭХД может быть использован для диагностики возбудителей ИППП.

По результатам сравнительного исследования эффективности культурального метода и ПЦР (Cobas Amplicor, Roche) у мужчин, хламидии были выявлены в уретре при отсутствии симптомов заболевания в 10,3 % культуральным методом и в 11,6 % — ПЦР, у мужчин с выраженными симптомами заболевания — в 13,7 % в культуральном тесте и в 18,5 % — ПЦР. Следовательно, чувствительность культурального теста у мужчин в уретре при невыраженных симптомах заболевания оказалась на 11% меньше по сравнению с ПЦР, при выра-

женных симптомах — на 26% меньше. Различия в показателях чувствительности указанных методов при взятии проб мочи существенно не отличались от соскобов со слизистой оболочки уретры [43].

В Новом Южном Уэльсе (Австралия) при обследовании мазков из урогенитального тракта на хламидиоз, количество мужчин с диагностированным обнаружением *C. trachomatis* на основании генетических методов (ПЦР) возросло с 36 % в 1999 г. до 90 % в 2002 г., а женщин — с 42 % в 1999 г. до 92 % в 2002 г. Образцы мочи подтверждали эти данные у $2/3$ мужчин и $1/3$ женщин.

У женщин при невыраженных симптомах инфекции при анализе соскобов со слизистой оболочки цервикального канала с помощью культурального метода, хламидии выявлены в 81 % случаев, с помощью ПЦР — в 98 %, при выраженных симптомах — соответственно, в 84 и 96 %. Образцы мочи дали положительные результаты при культуральном методе и ПЦР, соответственно, в 87 и 91 % случаев. Следовательно, исследование проб мочи и мазков из цервикального канала одинаково эффективно для выявления хламидий, однако по отдельности они не выявляют все случаи заболевания. Первая порция мочи предпочтительнее для анализа, чем вторая и последующие, при этом перерыв с момента предыдущего мочеиспускания менее важен [22]. Исследование образцов мочи становится более популярным и у женщин, особенно в случаях, когда взять мазок из цервикального канала невозможно. Сочетанный анализ мазков из цервикального канала и уретры представляется более эффективным, чем анализ только одного из них. Результаты исследований свидетельствуют, что проведение этого сочетанного анализа или образцов мочи и мазка из цервикального канала для определения хламидий лучше, чем взятие только пробы мочи при чувствительности указанных тестов 98,4; 97,9 и 93,3 %, соответственно. Авторами также было сделано предположение, что мазок из цервикального канала может быть помещён в образец мочи. С недавнего времени мазки из влагалища или вульвы также стали использоваться для диагностики хламидий. Имеются данные, что чувствительность LCR (Abbot) для анализа проб из цервикального канала составляет 85,2 %, из уретры — 92,6 %, мазков из вульвы — 85,2 %, проб мочи — 85,2 % [44].

Литература

1. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Креминская В. М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: Руководство. М.: Медицина, 2002.
2. Бойцов А. Г., Порин А. А., Ластовка О. Н. и др. Оценка эффективности серодиагностики хламидийной инфекции с помощью ИФА // Вестн. дерматовенерол. 2002. № 1. С. 43–45.
3. Бочкарев Е. Г. Лабораторная диагностика хламидийной инфекции: Лекции. М., 2005.
4. Лобзин Ю. В., Ляшенко Ю. И., Позняк А. Л. Хламидийные инфекции. СПб.: Фолиант, 2003.
5. Домейка М. Охрана репродуктивного здоровья в рамках реализации национального проекта «Здоровье» // Журн. акуш. и жен. бол. 2007. Т. LVI. С. 3–14.
6. Шаткин А. А. Хламидии и хламидиозы (вчера, сегодня, завтра) // В кн.: Актуальные вопросы диагностики и лечения хламидийных инфекций. М., 1990. С. 3–8.
7. Долгих Т. И. Краткая характеристика возбудителей хламидиоза // В кн.: Яковлев В. М., Новиков А. И. Сосудистый эндотелий и хламидийная инфекция. М.: Медицина, 2000. С. 127–153.
8. Рищук С. В., Костючек Д. Ф. Половые пары и половые партнеры. СПб.: Мед. пресса, 2005.
9. Делекторский В. В., Яшкова Г. Н., Мазарчук С. А. и др. Лабораторная диагностика урогенитального хламидиоза // Клин. лаб. диагностика. 1995. № 6. С. 108–110.
10. Савичева А. М., Башмакова М. А., Кошелева Н. Г. и др. Хламидийная инфекция в акушерстве и гинекологии (диагностика, клиника, лечение): Метод. пособие. СПб., 2002.
11. Семенов Н. В., Пудовкина И. Ф., Семенов А. В., Вашукова С. С. Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых *S. trachomatis* // В кн.: Лабораторная диагностика инфекционных вирусных заболеваний. СПб., 2004. С. 54–73.
12. Chen M.Y., Donovan B. Changes in testing methods for genital Chlamydia trachomatis in New South Wales, Australia, 1999 to 2002 // Sex Hlth. 2005. Vol. 2(4). P. 251–253.
13. Скворцов С. В., Найденов Ю. Н., Лыцарь Б. Н. и др. Диагностика хламидиоза и урогенитальных микоплазмозов при помощи цепной полимеразной реакции // Воен.-мед. журн. 1995. № 7. С. 49–50.
14. Кубась В. Г., Рищук С. В., Костючек Д. Ф. Клинико-лабораторное обоснование постановки диагноза урогенитального хламидиоза у мужчин // Журн. дерматовенерол. и косметол. 2002. № 1. С. 56–59.
15. Кубась В. Г., Рищук С. В., Костючек Д. Ф. и др. К вопросу о диагностике урогенитального хламидиоза // Здравоохран. Сев.-Зап. РФ: проблемы и решения. 2003. № 1 (2). С. 79–84.
16. Прохоренков В. И., Шапран М. В. О классификации урогенитального хламидиоза // ИППП. 2002. № 3. С. 3–6.



МОО «ЧЕЛОВЕК И ЕГО ЗДОРОВЬЕ»
NGO «PEOPLE & HEALTH»

(812) 380-3152, 380-3153,
(812) 380-3154, 380-3155,
ph@peterlink.ru www.congress-ph.ru

| ДАТА | МЕРОПРИЯТИЕ | МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ |
|----------------|--|--|
| 11-12 сентября | Российская конференция с международным участием V Юбилейные Плузжниковские чтения. Общие вопросы заболеваний ЛОР органов и челюстно-лицевой области | Санкт-Петербург, гостиница «Санкт-Петербург» (Пироговская наб., 5/2) |
| 13-14 сентября | Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Неотложные состояния в вертебрологии» | Санкт-Петербург, отель Парк Инн Пулковская (пл. Победы, 1) |
| 1-2 октября | XV Юбилейная Российская научно-практическая конференция «Давиденковские чтения» Инновации в неврологии Посвящается 120-летию первой в России кафедры для усовершенствования врачей-неврологов | Санкт-Петербург, гостиница «Санкт-Петербург» (Пироговская наб., 5/2) |
| 3-4 октября | Обучающий курс «Пробиотики, пребиотики: функциональные продукты для здорового и больного человека» | Санкт-Петербург, отель Парк Инн Пулковская (пл. Победы, 1) |

| ДАТА | МЕРОПРИЯТИЕ | МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ |
|---------------|---|--|
| 8-9 октября | Российский конгресс «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» | Санкт-Петербург, отель Парк Инн Пулковская (пл. Победы, 1) |
| 16–18 октября | XVIII Российский национальный конгресс «Человек и его здоровье» (ортопедия, травматология, протезирование, реабилитация) совместно с Дюссельдорф Мессе | Санкт-Петербург, Ленэкспо |
| 24-25 октября | VII Российская научно-практическая конференция с международным участием «Санкт-Петербургские дерматологические чтения» | Санкт-Петербург, отель Парк Инн Пулковская (пл. Победы, 1) |
| 7-9 ноября | Конгресс Российской Ассоциации радиологов с международным участием | Москва, РАНХиГС при президенте РФ (пр. Вернадского, 84) |

ПРИГЛАШАЕМ КОМПАНИИ К УЧАСТИЮ!

www.congress-ph.ru www.congress-ph.ru www.congress-ph.ru www.congress-ph.ru www.congress-ph.ru

17. Скрипкин Ю. К., Кубанова А. А., Дмитриев Г. А. и др. Современные подходы к диагностике хламидиоза // Вестн. дерматол. и венерол. 1996. № 4. С. 26–29.
18. Arustamian K. K. Comparative analysis of methods for diagnostics of chlamydial infection in women of reproductive age // *Georg. Med News*. 2006. P. 73–75.
19. Полецук Н. Н., Рубаник Л. В., Капитулец С. П. и др. Диагностика урогенитального хламидиоза при маловыраженной клинической симптоматике // *Здравоохранение*. 2003. № 2. С. 43–46.
20. Сельков С. А., Есипов А. С., Веденеева Г. Н. и др. Методические проблемы диагностики урогенитального хламидиоза // *Terra Medica*. 2001. Т. 1. С. 42–45.
21. Савичева А. М., Башмакова М. А. Урогенитальный хламидиоз у женщин и его последствия. Н/Новгород: Изд-во НГМА, 1998.
22. Chernesky M., Jang D., Chong S. et al. Impact of urine collection order on the ability of assays to identify *Chlamydia trachomatis* infections in men // *Sex. Transm. Dis.* 2003. Vol. 30. P. 345–347.
23. Кутлин А. В., Шаткин А. А., Дробышевская Э. И. Иммунодиагностические препараты на основе моноклональных антител к *Chlamydia trachomatis* // *Журн. микробиол.* 1996. № 6. С. 42–44.
24. D'Auriaz M. A., Refseth U. H., Espelund M. et al. A new automated method for isolation of *Chlamydia trachomatis* from urine eliminates inhibition and increases robustness for NAAT systems // *J. microbiol. Methods*. 2007. Vol. 70 (3). P. 416–423.
25. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. М.: Мед. информ. агентство, 2001.
26. Савичева А. М., Башмакова М. А., Новикова Л. Н. и др. Место молекулярно-биологических методов (ПЦР) в диагностике генитальных инфекций // В сб.: Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний: Материалы II Всерос. конф. М., 1998. С. 57–63.
27. Ozanne G. Infection chlamydial persistante non apparente dans des cellules de McCoy // *Rev. Can. Biol.* 1981. Vol. 40. № 2. P. 195–201.
28. Дмитриев Г. А. Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций. М.: Мед. книга; Н/Новгород: НГМА, 2003.
29. Palva A., Korpela K., Lassus A. et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* from genito — urinary specimens by improved nucleic acid sandwich hybridization // *FEMS Microbiol. Lett.* 1987. Vol. 40. P. 211–217.
30. Кротов С. А., Кротова В. А., Юрьев С. Ю. Хламидиозы: эпидемиология, характеристика возбудителя, методы лабораторной диагностики, лечение генитального хламидиоза. Кольцово, 1998.
31. Тэйлор-Робинсон Д., Рентой А. Какие тесты для диагностики инфекций, передаваемых половым путём, следует использовать в индустриально развитых странах // *ЗППП*. 1998. № 5. С. 23–26.
32. Шалено К. В., Шипицина Е. В., Савичева А. М. и др. Сравнение методов лабораторной диагностики урогенитальных инфекций, вызванных *Chlamydia trachomatis* // *Журн. акуш. и жен. бол.* 2001. Вып. 4. Т. L. С. 77–82.
33. Чураков А. А., Куличенко А. Н., Казакова Е. С. и др. К вопросу о лабораторной диагностике урогенитального хламидиоза // *Клин. лаб. диагностика*. 2005. № 2. С. 43–47.
34. Мавров И. И. Половые болезни. М.: АСТ-Пресс, 2002.
35. Тихомиров А. Л., Сарсания С. И. Урогенитальный хламидиоз: Рекомендации для врачей акушеров-гинекологов. М., 2006.
36. Trum J. W., Pannekoek Y., Spanjaard L. et al. Accurate detection of male subclinical genital tract infection via cervical culture and DNA hybridization assay of the female partner // *Int. J. Androl.* 2000. Vol. 23. № 1. P. 43–45.
37. Херсонская А. М. Современные методы клинической диагностики: ПЦР в режиме реального времени // *Медлайн-Экспресс*. 2007. № 6 (194). С. 55–57.
38. Bustin S. A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays // *J. molec. Endocr.* 2000. Vol. 25. P. 169–193.
39. Zhang W., Cohenford M., Lentricchia B. et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* by isothermal ramification amplification method: a feasibility study // *J. clin. Microbiol.* 2002. Vol. 40. № 1. P. 128–132.
40. Storm M., Gustafsson I., Herrmann B. et al. Real-time PCR for pharmacodynamic studies of *Chlamydia trachomatis* // *J. microbiol. Methods*. 2005. Vol. 61. № 3. P. 361–367.
41. Xia Q. F., Xu S. X., Wang D. S. et al. Development of a novel quantitative real-time assay using duplex scorpion primer for detection of *Chlamydia trachomatis* // *Exp. Mol. Pathol.* 2007. Vol. 83 (1). P. 119–124.
42. Lodes M. J., Suci D., Wilmoth J. L. et al. Identification of Upper Respiratory Tract Pathogens Using Electrochemical Detection on an Oligonucleotide Microarray // *PLoS ONE* 2 (9): e924. 2007.
43. Van der Pol B., Quinn T. C., Gaydos C. A. et al. Multi-center evaluation of the Amplicor and automated Cobas Amplicor CT/NG tests for detection of *Chlamydia trachomatis* // *J. clin. Microbiol.* 2000. Vol. 20. P. 1105–1112.
44. Airell A., Ottosson L., Bygdeman S. M. et al. *Chlamydia trachomatis* PCR (Cobas Amplicor) in women: endocervical specimens transported in a specimen of urine versus endocervical and urethral specimens in 2-SP medium versus urine specimen only // *Int. J. STD AIDS*. 2000. Vol. 11. P. 651–658.

V. A. Isakov^{1,2}, L. B. Kulyashova², L. A. Berezina², A. V. Svarval²

¹Pavlov State Medical University of St. Petersburg

²Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg

Laboratory diagnostics of urogenital chlamydiosis. Part 2. Methods of diagnosis of chlamydial infection: an analytical review (see the beginning № 1, 2012)

The paper presents the classification of methods of diagnosis of chlamydiosis. The immunomorphological, culture and molecular biological methods of laboratory diagnosis of chlamydiosis are discussed in details.

Key words: methods of diagnosis of chlamydiosis, direct immunofluorescence, polymerase chain reaction