

**Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И.Мечникова Минздрава России,
г. Санкт-Петербург**

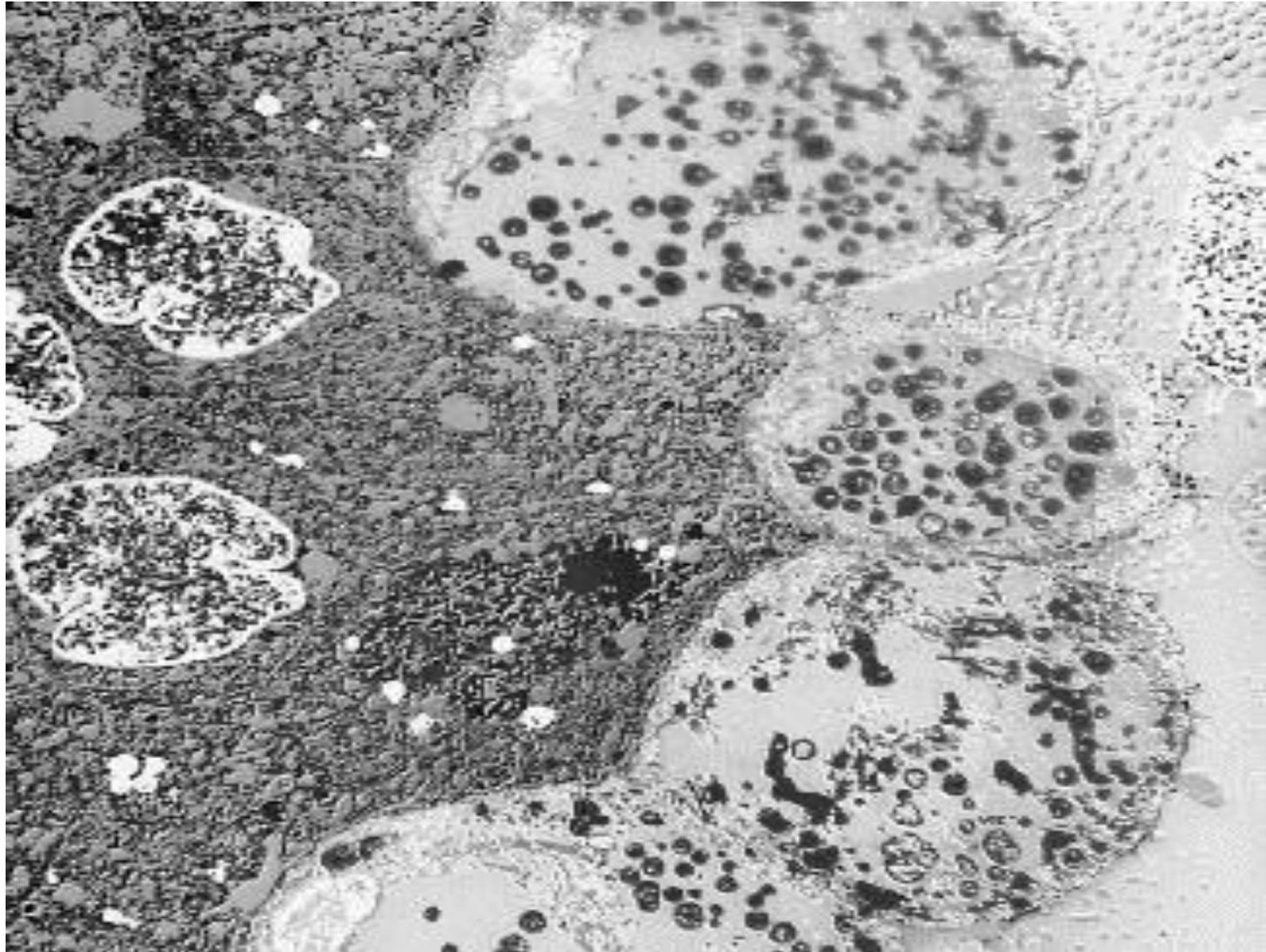
**Насколько обоснованы
рекомендации по диагностике
хламидийной инфекции у
половых партнёров?**

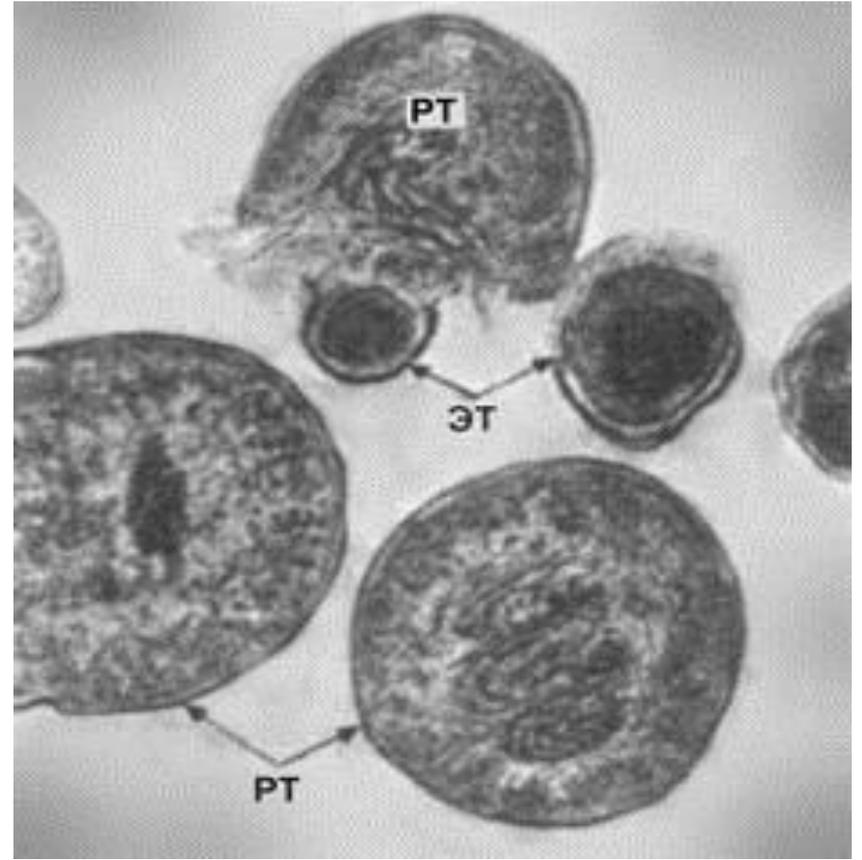
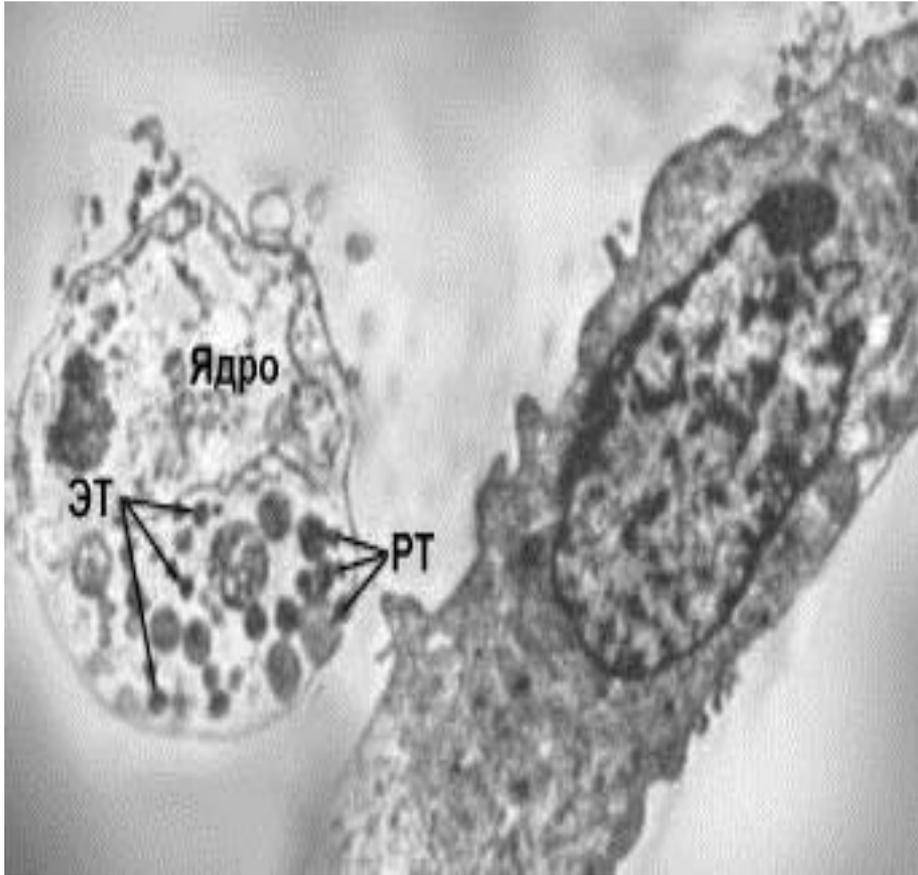


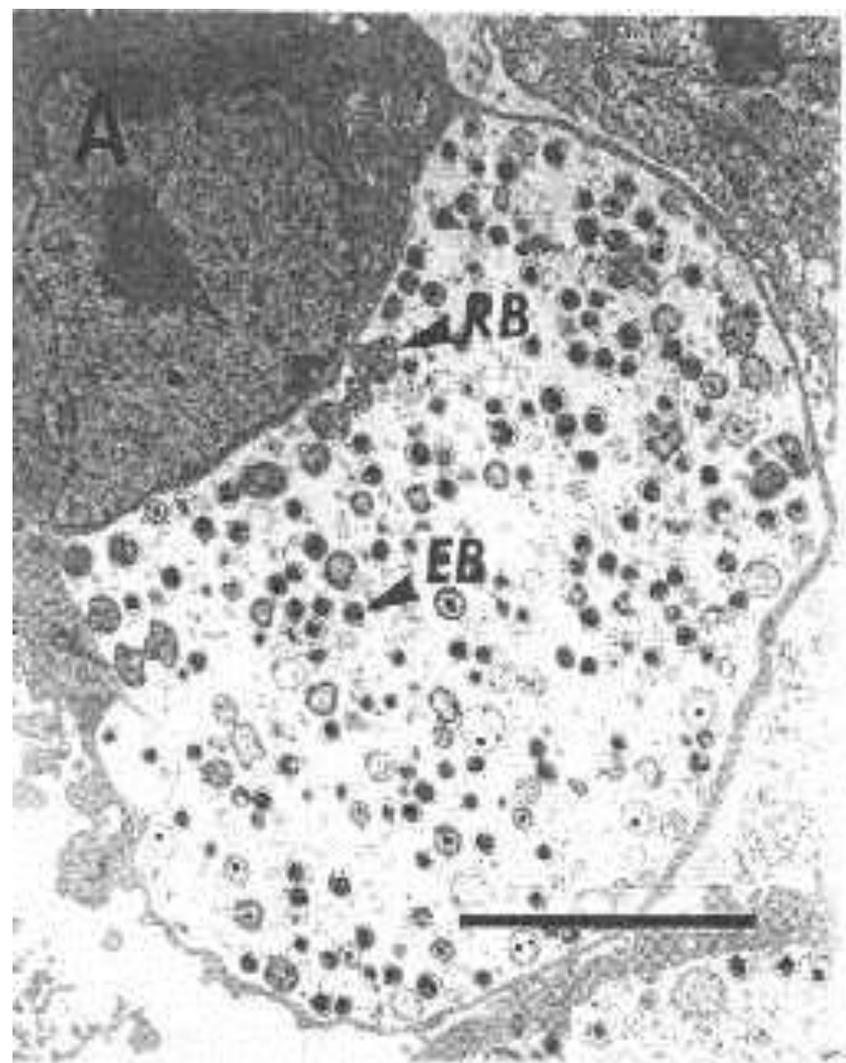
**д.м.н. профессор
Рищук Сергей Владимирович,**



Урогенитальная хламидийная инфекция– *Chlamydia trachomatis*







Заболеваемость

«Хотя инфекция, вызванная *Chlamydia trachomatis*, считается наиболее распространенной из всех инфекций, передаваемых половым путем, реальная частота и распространенность её остаётся неизвестной»

[Land J. A. et al., 2010].

По данным Всемирной Организации Здравоохранения в мире ежегодно регистрируется почти 100 млн новых случаев *C. trachomatis*.

В 2009 г. в Центры по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention (CDC)) поступили сообщения о 1 244 180 новых случаях хламидийной инфекции. Однако реальное количество по меньшей мере в 2 раза больше - около 3 млн случаев, поскольку большинство (70-90%) эпизодов хламидийной инфекции нижних отделов урогенитального тракта у женщин протекают бессимптомно и поэтому остаются недиагностированными

[Lanjouw E., Ossewaarde J. M., Strydom A. et al. 2010 European guideline for the management of Chlamydia trachomatis infections // Int J STD AIDS. 2010; 21 (11): 729–737.]

Заболеваемость

Как в США, так и в большинстве стран Европы за последние 10 лет отмечается рост частоты хламидийной инфекции [Van de Laar M. J., Morre S. A. 2007], однако в ряде европейских государств хламидийная инфекция не относится к заболеваниям, подлежащим регистрации.

Реальные цифры заболеваемости хламидийной инфекцией в России отсутствуют из-за её неадекватной диагностики.

Динамика заболеваемости хламидийной инфекцией в США среди разных групп населения

[CDS Sexually Transmitted Diseases, 2009]



Современная номенклатура и таксономия хламидий и родственных им микроорганизмов

Порядок *Chlamydiales*

Семейство *Chlamydiaceae*

- ❖ род *Chlamydia*: виды - *C. trachomatis*, *C. suis*, *C. muridarum*
- ❖ род *Chlamydophila*: виды - *C. pneumoniae*, *C. pecorum*, *C. psittaci*, *C. abortus*, *C. cavia*, *C. felis*

Семейство *Parachlamydiaceae*

- ❖ род *Parachlamydia*: вид *P. acanthamoebae*

Семейство *Sinkaniaceae*

- ❖ род *Sinkania*: вид *S. negevensis*

Семейство *Waddiaceae*

- ❖ род *Waddia*: вид *W. chondrophila*

Антигенные свойства

■ Родоспецифический групповой антиген - общий для всех видов хламидий: *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *C. suis*, *C. muridarum*):

➤ имеет сходство с ЛПС ряда грамотрицательных бактерий (Re-мутанты *Salmonella*, *Acinetobacter calcoaceticus*);

➤ представлен тремя различными антигенными доменами термостабильного, устойчивого к действию протеаз и нуклеаз липополисахарида (LPS) наружной мембраны.

Антигенные свойства

■ Видоспецифические антигены - общие для всех серотипов *C.trachomatis*; локализуются на поверхности ЭТ, термолабильные, белковой природы.

■ Разновидности:

- 18 различных компонентов протеина 155 кДа
- MOMP - *main outer membrane protein* 40 кДа - домены VD1 и VD3
- Chsp60 - белок теплового шока хламидий *hsp60 - heat shock protein 60 kDa* (на 50% гомология с шоковыми белками эукариотической клетки и энтеробактерий)
- OMP2 - *outer membrane protein 2* – белок наружной мембраны второго типа 60 кДа



Российское общество
дерматовенерологов
и КОСМЕТОЛОГОВ

**ВЕДЕНИЕ БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯМИ,
ПЕРЕДАВАЕМЫМИ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ,
И УРОГЕНИТАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ**

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Москва
2012

Верификация диагноза

(основные выдержки из рекомендаций)

- ❑ Верификация диагноза хламидийной инфекции базируется на результатах лабораторных исследований с помощью молекулярно-биологических методов, направленных на обнаружение специфических фрагментов ДНК и/или РНК *S. trachomatis*, с использованием тест-систем, разрешенных к медицинскому применению в Российской Федерации. Чувствительность методов составляет 98-100%, специфичность – 100%.
- ❑ Другие методы лабораторных исследований, в том числе прямая иммунофлюоресценция (ПИФ), иммуноферментный анализ (ИФА) для обнаружения антител к *S. trachomatis*, микроскопический и морфологический методы **недопустимо** использовать для диагностики хламидийной инфекции.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

Методические рекомендации для врачей



ex libris
ЖУРНАЛЬ
АКУШЕРСТВА И ЖЕНСКИХ БОЛЕЗНЕЙ

| | |
|--|--|
| | ОБЩЕСТВО АКУШЕРОВ-ГИНЕКОЛОГОВ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА |
| | САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГОВ ИМ. В.М. ТАРНОВСКОГО |
| | АНО «СОДРУЖЕСТВО СПЕЦИАЛИСТОВ ПО ОХРАНЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ» |
| | ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АССОЦИАЦИИ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПО САНКТ-ПЕТЕРБУРГУ И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ |
| | ВОСТОЧНО ЕВРОПЕЙСКИЙ КОМИТЕТ ШВЕДСКОГО ОБЩЕСТВА ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ |

УТВЕРЖДАЮ
Председатель комитета
по здравоохранению
Ленинградской области



УТВЕРЖДАЮ
Председатель комитета
по здравоохранению
Администрации
Санкт-Петербурга



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

«СОГЛАСОВАНО»

Вике-президент Российской ассоциации
Медицинской лабораторной диагностики
Профессор В. Л. Эмануэль
« 15 » 05 / 2008 г.

ВЫВОДЫ рекомендаций

1. Для постановки диагноза урогенитальной хламидийной инфекции рекомендуется использовать валидированные и разрешенные к применению методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот (МАНК, ТАНК).
2. Для рутинной диагностики урогенитальной хламидийной инфекции не рекомендуется использование культурального метода и методов, основанных на выявлении антигенов хламидий. Культуральный метод может быть использован для научно-исследовательских целей и (редко) для судебно-медицинской экспертизы.
3. Выявление антител к хламидиям для рутинной диагностики хламидийной инфекции урогенитального тракта **не рекомендуется**. Метод может использоваться для научно-исследовательских целей.
4. Экспресс-тесты у постели больного при наличии соответствующей лабораторной службы не рекомендуются для использования.

Методы лабораторной диагностики (экскурс)

1. Методы, направленные на выявление возбудителя, его антигенов или нуклеиновых кислот (**прямые методы**)

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

б) культуральный метод;

в) индикация антигенов: реакция иммунофлюоресценции и иммунохроматография;

г) индикация нуклеиновых кислот: ДНК-гибридизация и амплификация (PCR, LCR, *real-time* PCR и т. д.).

2. Методы, направленные на выявление антител к возбудителю (**косвенные**):

а) поиск антител в сыворотке крови;

б) поиск антител в сперме, эндоцервикальной слизи и других биологических жидкостях.

Терминология

Биотоп — участок среды обитания эндогенной микрофлоры, характеризующийся однородными условиями существования. Эндогенная микрофлора данного биотопа составляют его **микробиоценоз** или **микробиоту**; каждому биотопу соответствует свой микробиоценоз или микробиота /в её составе – облигатная (автохтонная) и факультативная микрофлора (аллохтонная)/.

Частные случаи: вагинальный биотоп, уретральный биотоп и т.д.

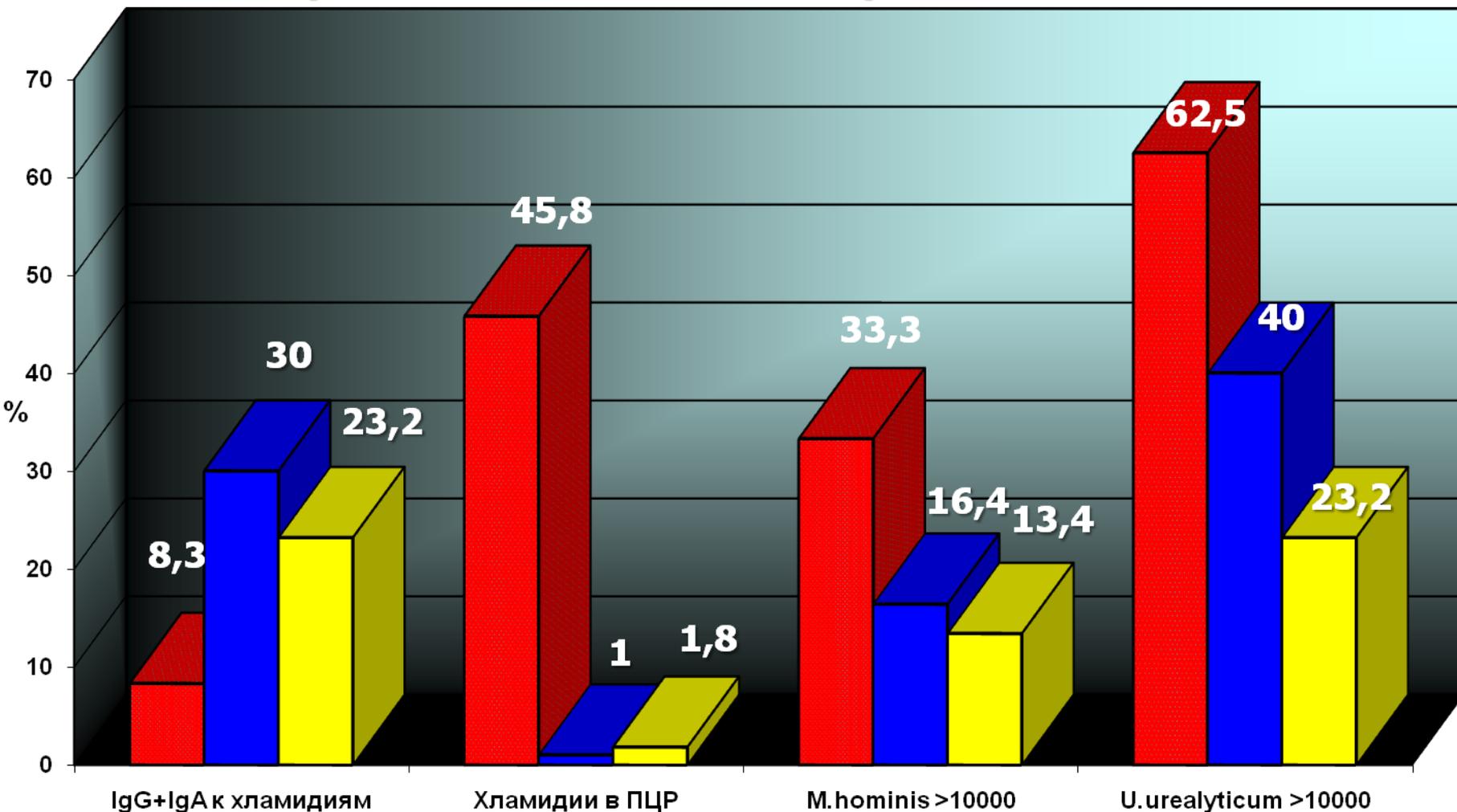
Варианты обсеменённости хламидиями различных биотопов репродуктивной системы у женщин

| Биотопы | Шейка матки | Полость матки | Придатки | Острота процесса |
|-----------|-------------|---------------|----------|----------------------|
| Вариант 1 | | | | Чаще острый процесс |
| Вариант 2 | | | | Острый и хронический |
| Вариант 3 | | | | Острый и хронический |
| Вариант 4 | | | | Чаще хронический |
| Вариант 5 | | | | Чаще хронический |

Варианты обсеменённости хламидиями различных биотопов репродуктивной системы у мужчин

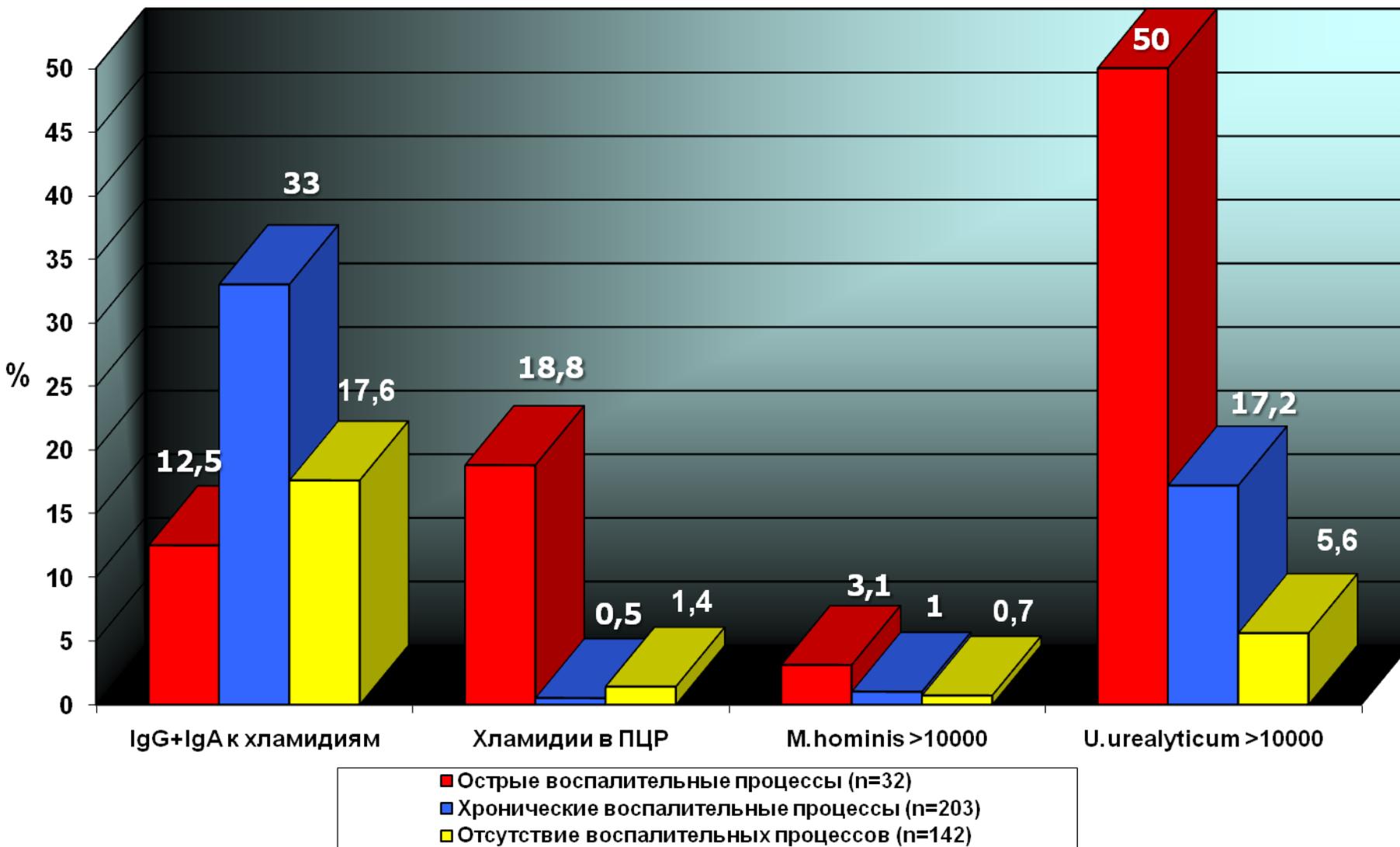
| Биотопы | Уретра | Предстательная железа | Семенные пузырьки | Придатки яичек и яички | Острота процесса |
|-----------|--------|-----------------------|-------------------|------------------------|----------------------|
| Вариант 1 | ■ | □ | □ | □ | Чаще острый процесс |
| Вариант 2 | ■ | ■ | □ | □ | Острый и хронический |
| Вариант 3 | □ | ■ | □ | □ | Чаще хронический |
| Вариант 4 | ■ | ■ | ■ | □ | Чаще хронический |
| Вариант 5 | ■ | ■ | ■ | ■ | Чаще хронический |
| Вариант 6 | □ | ■ | ■ | ■ | Чаще хронический |
| Вариант 7 | □ | □ | ■ | ■ | Чаще хронический |
| Вариант 8 | □ | □ | □ | ■ | Чаще хронический |

Выявляемость лабораторных тестов по хламидийной и микоплазменной инфекции у женщин в зависимости от остроты воспалительного процесса гениталий



- Острые воспалительные процессы (n=24)
- Хронические воспалительные процессы (n=354)
- Отсутствие воспалительного процесса (n=112)

Выявляемость лабораторных тестов по хламидийной и микоплазменной инфекции у мужчин в зависимости от остроты воспалительного процесса гениталий



Выборка больных

(данные Северо-западного института андрологии и Северо-Западного государственного университета им. И.И. Мечникова)

Обследовано 760 мужчин и 468 женщин, в составе которых были 353 пары, с различными нарушениями в репродуктивной системе.

Сопоставление real-time PCR с серологией (т/с с фосфатазно-щелочным конъюгатом) у мужчин (n=549)

| IgG к хламидиям в сыворотке | IgA к хламидиям в сыворотке | IgA к хламидиям в эякуляте | Real-time PCR | Количество случаев | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------|-----------------------|------|
| | | | | N | % |
| + | -- | -- | -- | 21 | 3,8 |
| + | + | -- | -- | 22 | 4,0 |
| + | + | + | -- | 136 | 24,8 |
| -- | + | -- | -- | 41 | 7,5 |
| -- | + | + | -- | 22 | 4,0 |
| -- | -- | + | -- | 25 | 4,6 |
| + | -- | + | -- | 31 | 5,6 |

Сопоставление real-time PCR с серологией (т/с с фосфатазно-щелочным конъюгатом)

у МУЖЧИН (n=549) /продолжение/

| IgG к хламидиям в сыворотке | IgA к хламидиям в сыворотке | IgA к хламидиям в эякуляте | Real-time PCR | Количество случаев | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------|-----------------------|------|
| | | | | N | % |
| -- | + | -- | + | 0 | 0 |
| -- | + | + | + | 1 | 0,2 |
| + | -- | + | + | 4 | 0,7 |
| + | + | + | + | 5 | 0,9 |
| -- | -- | + | + | 1 | 0,2 |
| + | -- | -- | + | 1 | 0,2 |
| + | + | -- | + | 0 | 0 |
| -- | -- | -- | + | 6 | 1,1 |
| -- | -- | -- | -- | 233 | 42,4 |
| Σ | | | | 549 | 100 |

Сопоставление real-time PCR с серологией (т/с с фосфатазно-щелочным конъюгатом) у женщин (n=457)

| IgG к хламидиям в сыворотке | IgA к хламидиям в сыворотке | Real-time PCR | Количество случаев | |
|--------------------------------|-----------------------------------|---------------|-----------------------|------|
| | | | N | % |
| + | -- | -- | 58 | 12,7 |
| + | + | -- | 162 | 35,4 |
| -- | + | -- | 34 | 7,4 |
| + | -- | + | 2 | 0,4 |
| + | + | + | 5 | 1,1 |
| -- | + | + | 0 | 0 |
| -- | -- | + | 6 | 1,3 |
| -- | -- | -- | 190 | 41,6 |
| Σ | | | 457 | 100 |

Сравнение результатов серологии (IgG и IgA) по хламидиозу с использованием пероксидазного (ПК) и фосфатазно-щелочного конъюгата (ФЦК) у мужчин.

| ФЦК | ПК | IgG к <i>Ch.trachomatis</i> | | IgA к <i>Ch.trachomatis</i> | |
|-----|----|--------------------------------|-------|--------------------------------|-------|
| | | N | % | N | % |
| + | + | 20 | 14,29 | 3 | 2,14 |
| + | -- | 39 | 27,86 | 59 | 42,14 |
| -- | + | 0 | 0 | 1 | 0,71 |
| -- | -- | 81 | 57,86 | 77 | 55,00 |
| Σ | | 140 | 100 | 140 | 100 |

Сравнение результатов серологии (IgG и IgA) по хламидиозу с использованием пероксидазного (ПК) и фосфатазно-щелочного конъюгата (ФЦК) у женщин

| ФЦК | ПК | IgG к <i>Ch.trachomatis</i> | | IgA к <i>Ch.trachomatis</i> | |
|-----|----|--------------------------------|-------|--------------------------------|-------|
| | | N | % | N | % |
| + | + | 15 | 20,55 | 4 | 5,56 |
| + | -- | 23 | 31,51 | 29 | 40,28 |
| -- | + | 1 | 1,37 | 0 | 0 |
| -- | -- | 34 | 46,58 | 39 | 54,17 |
| Σ | | 73 | 100 | 72 | 100 |

Корреляции лабораторных тестов с клиническими проблемами у женщин

1. При хронизации хламидийной инфекции обнаружение возбудителя в real-time PCR имеет место в 3,7% случаев и не коррелирует ни с одной клинической ситуацией.

2. Определение специфических противохламидийных иммуноглобулинов в сыворотке крови на т/с с использованием конъюгата с пероксидазой хрена не коррелирует ни с одной клинической ситуацией.

Корреляции лабораторных тестов с клиническими проблемами у женщин

3. Определение специфических противохламидийных иммуноглобулинов в биоматериалах в т/с с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата коррелирует со следующими клиническими ситуациями:

Сочетание IgG к *C.trachomatis* и IgA к *C.trachomatis* у женщин наиболее часто встречается при **спаечных процессах в малом тазу, бактериальном вагинозе, а также при хронических воспалительных процессах в органах мочевыделительной системы.**

Корреляции лабораторных тестов с клиническими проблемами у мужчин

1. При хронизации хламидийной инфекции обнаружение возбудителя в ПЦР имеет место в 4,4% случаев и не коррелирует ни с одной клинической ситуацией.

2. Определение специфических противохламидийных иммуноглобулинов в сыворотке крови на т/с с использованием конъюгата с пероксидазой хрена не коррелирует ни с одной клинической ситуацией.

Корреляции лабораторных тестов с клиническими проблемами у мужчин

3. Определение специфических противохламидийных иммуноглобулинов в биоматериалах в т/с с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата коррелирует со следующими клиническими ситуациями:

- ❖ Установлена связь между неудачным ЭКО и наличием изолированных IgA к *C. trachomatis* в сыворотке без IgA в эякуляте у мужчин.

Корреляции лабораторных тестов с клиническими проблемами у мужчин

- ❖ Отягощённый акушерский и гинекологический анамнез у женщин коррелирует с сочетанием IgA к *C.trachomatis* в сыворотке и IgA к *C.trachomatis* в эякуляте у мужчин – их половых партнёров (этот феномен можно объяснить особенностями патогена и иммунных реакций у партнёров на данный возбудитель, а также неблагоприятным сочетанием IgA к *C.trachomatis* в сыворотке и IgA к *C.trachomatis* в эякуляте у мужчин в плане возникновения данного вида осложнений у женщин – их половых партнёров)
- ❖ Наиболее частым у мужчин при патоспермии является обнаружение IgA к *C.trachomatis* в сыворотке и IgA к *C.trachomatis* в эякуляте.

Работы, подтверждающие значимость серологических тестов при хламидийной инфекции

Idahl A., Boman J., Kumlin U., Olofsson J.I. Demonstration of Chlamydia trachomatis IgG antibodies in the male partner of the infertile couple is correlated with a reduced likelihood of achieving pregnancy. Hum Reprod. 2004 May;19(5):1121-6.

(Department of Clinical Science/Obstetrics and Gynecology, Umeå University, Sweden)

Baud D., Goy G., Jaton K., Osterheld M.-C., Blumer S., Borel N., et al. Role of *Chlamydia trachomatis* in Miscarriage. Emerg Infect Dis. 2011 September; 17(9): 1630–1635.

(University Hospital of Lausanne, Lausanne, Switzerland)

Joyee A.G., Thyagarajan S.P., Vikram Reddy E., Rajendran P., Venkatesan C., Ganapathy M. Diagnostic utility of serologic markers for genital chlamydial infection in STD patients in Chennai, India. J Assoc Physicians India. 2007 Nov;55:777-80.

Работы, подтверждающие значимость серологических тестов при хламидийной инфекции

Horner P., Soldan K., Vieira S.M., Wills G.S., Woodhall S.C., Pebody R., Nardone A., Stanford E., McClure M.O. C. trachomatis Pgp3 antibody prevalence in young women in England, 1993-2010. PLoS One. 2013 Aug 21;8(8):e72001.

(School of Social and Community Medicine, University of Bristol, Bristol, United Kingdom.)

Siam E.M., Hefzy E.M.

The relationship between antisperm antibodies prevalence and genital chlamydia trachomatis infection in women with unexplained infertility. Afr J Reprod Health. 2011 Sep;15(3):93-101.

(Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, El-Minya University, Egypt.)

Работы, подтверждающие значимость серологических тестов при хламидийной инфекции

Geisler W.M., Morrison S.G., Doemland M.L., Iqbal S.M., Su J., Mancevski A., Hook E.W., Morrison R.P. Immunoglobulin-specific responses to Chlamydia elementary bodies in individuals with and at risk for genitalchlamydial infection. J Infect Dis. 2012 Dec 15;206(12):1836-43. doi: 10.1093/infdis/jis621. Epub 2012 Oct 8.

(Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, University of Alabama at Birmingham, USA.)

Komoda T.

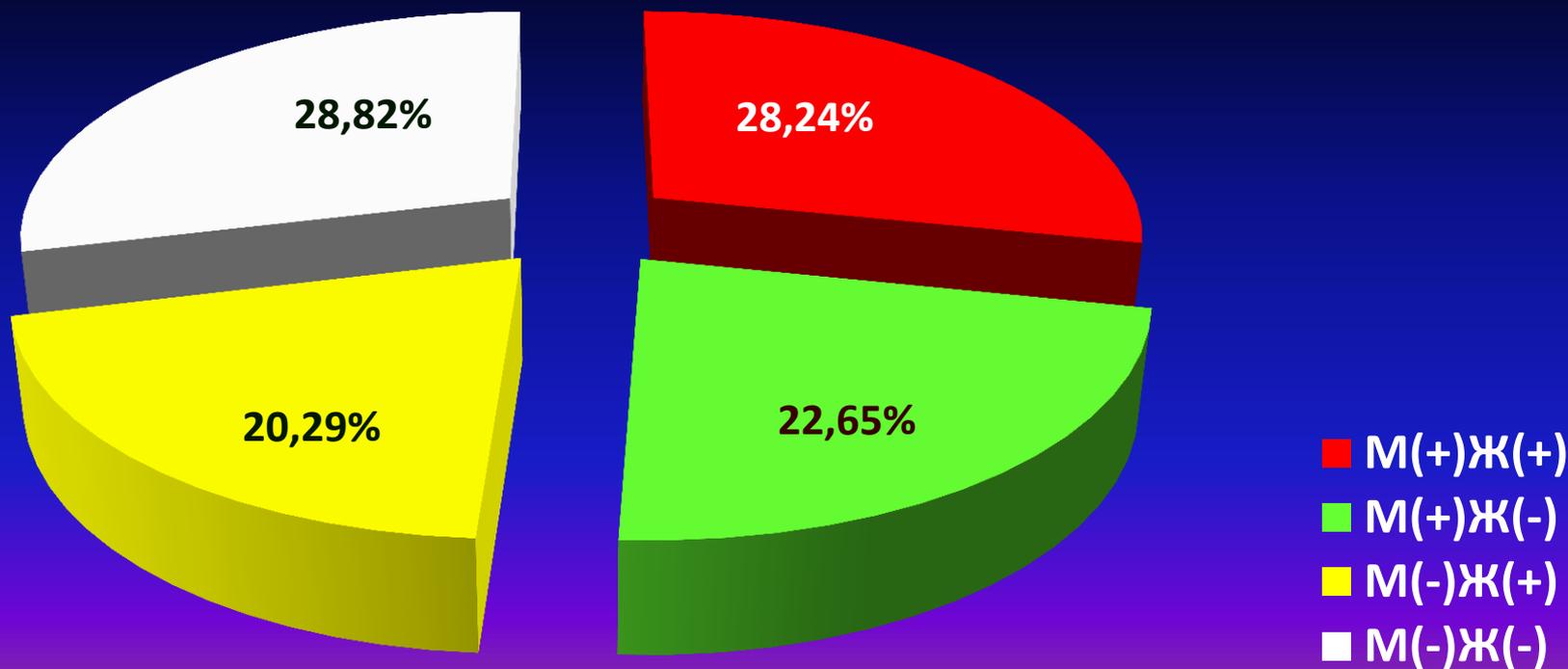
Kinetic study of antibodies (IgG, IgA) to Chlamydia trachomatis: importance of IgA antibody in screening test for C. trachomatis infection by peptide-based enzyme immunosorbent assay. Jpn J Infect Dis. 2007 Nov;60(6):347-51.

(Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Kyorin University, Tokyo 192-8508, Japan)

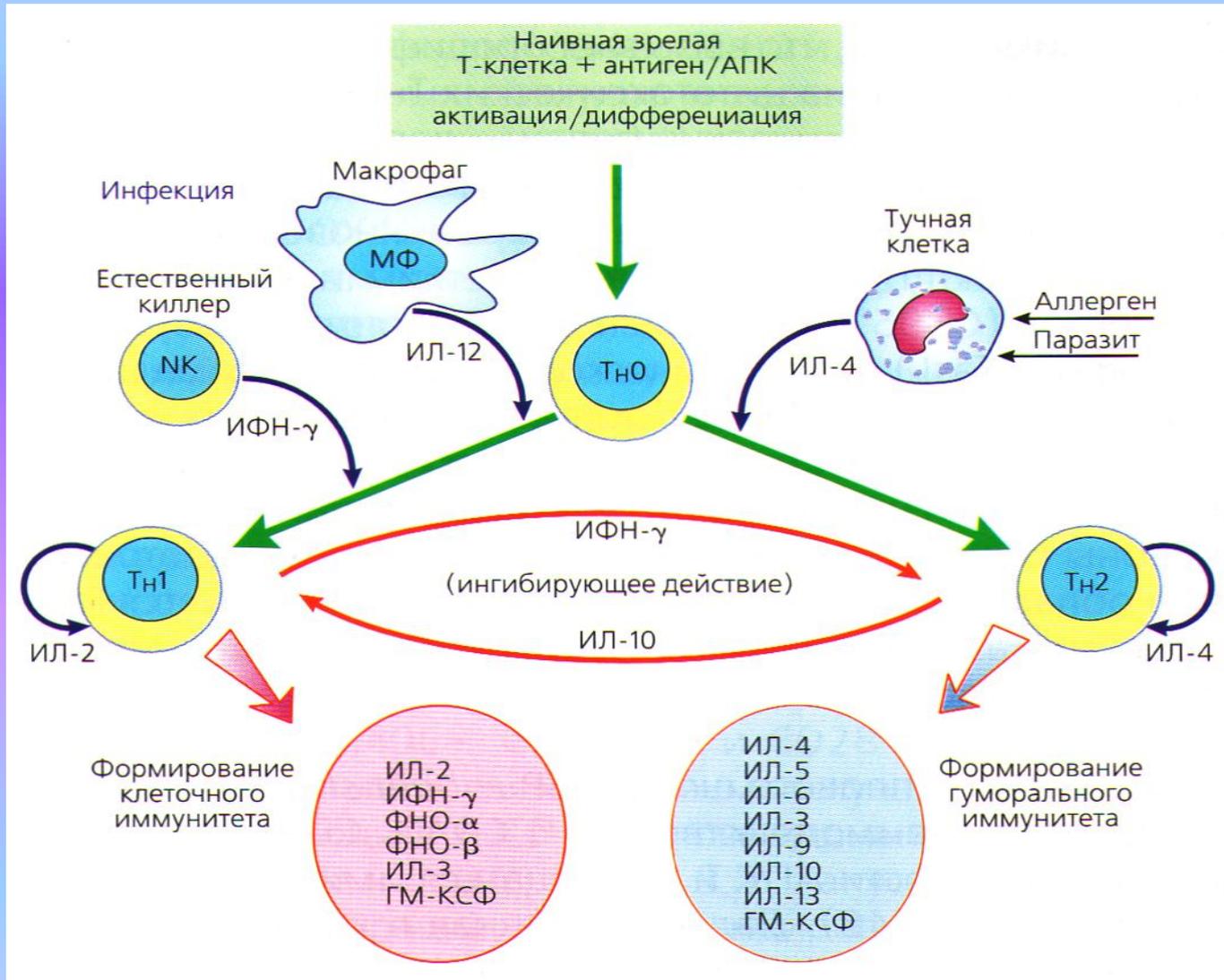
**Особенность
хламидийной
инфекции у
половых пар**

Различные сочетания хламидийной инфекции в парах (n=340)

Ch.trachomatis



Цитокиновый профиль субпопуляций Т-хелперов (Th1 и Th2) при хламидийной инфекции



Ретикулярные тельца

Элементарные тельца

Критерии лабораторного подтверждения диагноза хронической урогенитальной хламидийной инфекции у женщин и мужчин

| Варианты | Косвенные тесты | | | Прямой тест |
|----------|-----------------|-----|-----------------------------------|--------------------------|
| | Серологические | | sIgA (эякулят, эндоцервикс) | ПЦР или real-time ПЦР |
| | IgG | IgA | | |
| 1 | +/-- | + | -- | -- |
| 2 | +/-- | + | -- | + |
| 3 | +/-- | + | + | -- |
| 4 | +/-- | + | + | + |
| 5 | +/-- | -- | + | -- |
| 6 | +/-- | -- | + | + |
| 7 | +/-- | -- | -- | + |

Практические Рекомендации (оптимизация по хламидийной инфекции у женщин: *Chlamydia trachomatis*)

1. Серологическое исследование сыворотки крови на тест-системах с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата: доступные в России **ImmunoComb Chlamydia Bivalent IgG** и **ImmunoComb Chlamydia trachomatis Monovalent IgA**. Для определения специфических противохламидийных IgA можно также использовать немоновалент - **ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgA**.
2. Исследование IgA к хламидиям в эндоцервикальной слизи с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата (доступные в России **ImmunoComb Chlamydia trachomatis Monovalent IgA** или немоновалент – **Immuno Comb Chlamydia trachomatis IgA**).
3. Исследование соскобного материала из эндоцервикса и вагины в ПЦР (материал можно смешать в одном эппендорфе). Предпочтительно использовать **real-time PCR** в качественной постановке производства «АмплиСенс» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва.

Практические Рекомендации (оптимизация по хламидийной инфекции у мужчин: *Chlamydia trachomatis*)

1. Серологическое исследование сыворотки крови на тест-системах с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата: доступные в России ***ImmunoComb Chlamydia Bivalent IgG*** и ***ImmunoComb Chlamydia trachomatis Monovalent IgA***. Для определения специфических противохламидийных IgA можно также использовать немоновалент - ***ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgA***.
2. Исследование IgA к хламидиям в эякуляте с использованием фосфатазно- щелочного конъюгата (доступные в России ***ImmunoComb Chlamydia trachomatis Monovalent IgA*** или немоновалент - ***ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgA***).



Практические Рекомендации (оптимизация по хламидийной инфекции у мужчин: *Chlamydia trachomatis*)

3. Исследование соскобного материала из уретры и отдельно эякулята в ПЦР (предпочтительно использовать *real-time PCR* в качественной постановке производства «АмплиСенс» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва).
Забор материала из уретры и эякулята рекомендуется производить на фоне воздержания от мочеиспускания в течение 3-4 часов. Соскоб из уретры осуществлять в отдельный эппендорф с буфером предпочтительно сразу после эякуляции.

Методические рекомендации МЗиСР РФ, 2006

<http://рищук.пф>; <http://rishchuk.ru>; <http://andrologin.spb.ru>

Представительство Министерства здравоохранения и социального развития РФ
и Координационный совет в Северо-Западном федеральном округе
Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию
Государственное образовательное учреждение высшего профессионального
образования Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова
Государственное учреждение здравоохранения
Санкт-Петербургский городской кожно-венерологический диспансер
ЗАО «Биоград»

«УТВЕРЖДАЮ»
Представитель министерства здравоохранения
и социального развития Российской Федерации
по Северо-Западному Федеральному округу
Академик РАМН
И.В. Шабров
«14» апреля 2006



ДИАГНОСТИКА И УСТАНОВЛЕНИЕ ИЗЛЕЧЕННОСТИ ПОЛОВЫХ ПАР ПО УРОГЕНИТАЛЬНОМУ ХЛАМИДИОЗУ И МИКОПЛАЗМОЗУ

Методические рекомендации

Составители:

Рищук Сергей Владимирович — доктор медицинских наук, венеролог, эндокринолог, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1 Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова.

Смирнова Татьяна Сергеевна — кандидат медицинских наук, заслуженный врач РФ, главный дерматовенеролог Санк-Петербурга, главный врач городского кожно-венерологического диспансера.

Бойцов Алексей Геннадьевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова, главный бактериолог Северо-Западного Федерального округа.

Костючек Дина Фёдоровна — доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии № 1 Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова.

Дробченко Светлана Николаевна — кандидат химических наук, президент ЗАО «Биоград»

Рецензент:

Кубась Валентин Григорьевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и микологии СПб МАПО.

Рищук С.В.

Диагностика и установление излеченности половых пар по урогенитальному хламидиозу и микоплазмозу: методические рекомендации // С.В. Рищук [и др.] / под ред. В.Г. Кубася. — СПб, 2006. — 20 с.

Методические рекомендации посвящены совершенствованию диагностических подходов по хламидийной и микоплазменной инфекциям у половых пар. Представлены также алгоритмы установления излеченности пар от указанных сексуально-трансмиссивных заболеваний.

Методические рекомендации предназначены для гинекологов, дерматовенерологов, урологов и микробиологов.

Алгоритм обследования пары на хламидийную инфекцию



Повышение эффективности установления диагноза СТЗ у мужчин



■ Исходный уровень ■ После оптимизации ■ С учётом результатов у партнёра

Повышение эффективности установления диагноза СТЗ у женщин



■ Исходный уровень

■ После оптимизации

■ С учётом результатов у партнёра

Анализ случаев с неудачными попытками ЭКО на примере 52 семейных пар, обследованных до проведения ЭКО по утверждённому диагностическим стандартам (данные СЗИА, Санкт-Петербург, 2010-2013 г.г.)

| Патология | | N | % |
|---|------------------|----|---------|
| Половые инфекции (без эндокринной патологии) | | 36 | 69,2 |
| Из них: | ■ хламидийная | | у 41,9% |
| | ■ микоплазменная | | у 25,6% |
| | ■ трихомонадная | | у 32,6% |
| Эндокринная патология: аутоиммунный тиреоидит, скрытый аденогенитальный синдром и гиперпролактинемия в различных сочетаниях | | 5 | 9,6 |
| Сочетанная инфекционно-эндокринная патология | | 7 | 13,5 |
| Причину неудач ЭКО выявить не удалось (возможно, имели место генетические дефекты, отвечающие за эмбриогенез) | | 4 | 7,7 |

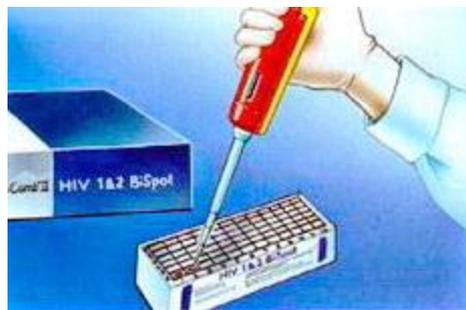
Почему мы отдаём предпочтение ИммуноКомбам?

- Простота постановки теста (не требуется аппаратного обеспечения).**
- Возможность использования любого количества проб без финансовых потерь.**
- Возможность проведения теста в полужидких биосубстратах и цельной крови.**
- Использование фосфатазно-щелочного конъюгата, на порядок повышающего чувствительность теста, по сравнению с пероксидазным.**

Схема постановки анализа на ИФА тест-системах ИммуноКомб



1. Для индивидуального тестирования гребешок можно согнуть и отломить необходимое количество зубцов.



2. В ряд А ванночки вносятся образцы (сыворотка, плазма или цельная кровь) и контроли.

Схема постановки анализа на ИФА тест-системах ИммуноКомб



3. Гребешок вставляется в ряд А и инкубируется (реакция антиген-антитело).

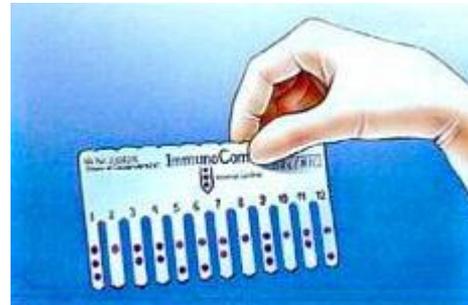


4. Гребешок перемещается из ряда в ряд ванночки в соответствии с инструкцией (промывки и связывание с фосфатазно-щелочным конъюгатом).

Схема постановки анализа на ИФА тест-системах ИммуноКомб



5. Цветная реакция в ряду F.



6. Результат анализа в виде окрашенных точек. Верхняя точка: внутренний контроль. Нижняя точка и (или) средняя точки появляются в случае наличия - инфекции.

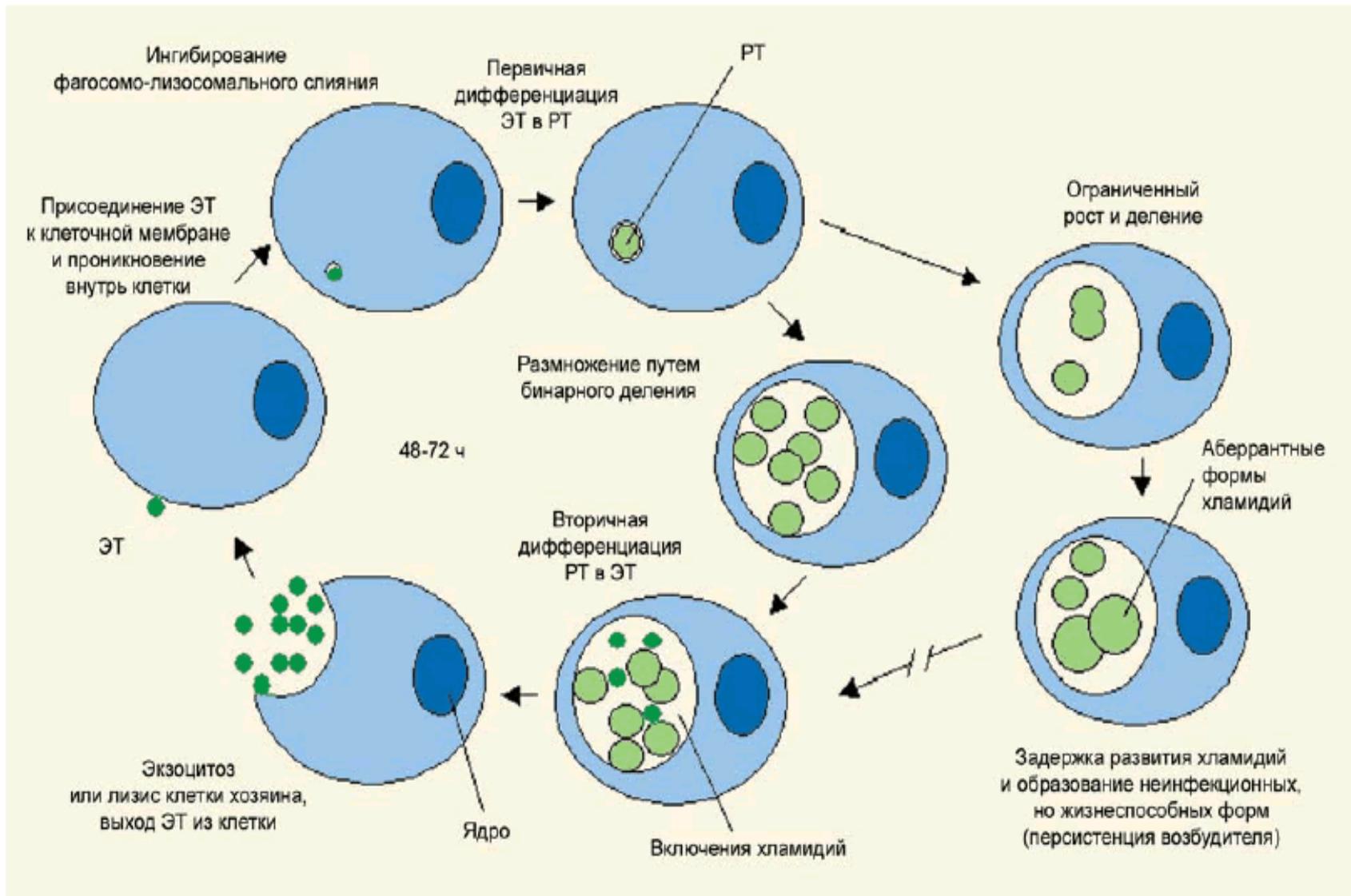
**Диагностика
персистентной
формы инфекции
(доказательство наличия
аберрантной формы
инфекции)**

Аберрантные = покоящиеся = некультивируемые = персистентные формы

**результат изменения нормального
жизненного цикла хламидий и их переход в
«покоящиеся» формы, когда
микроорганизмы продолжают свой рост без
соответствующего деления**

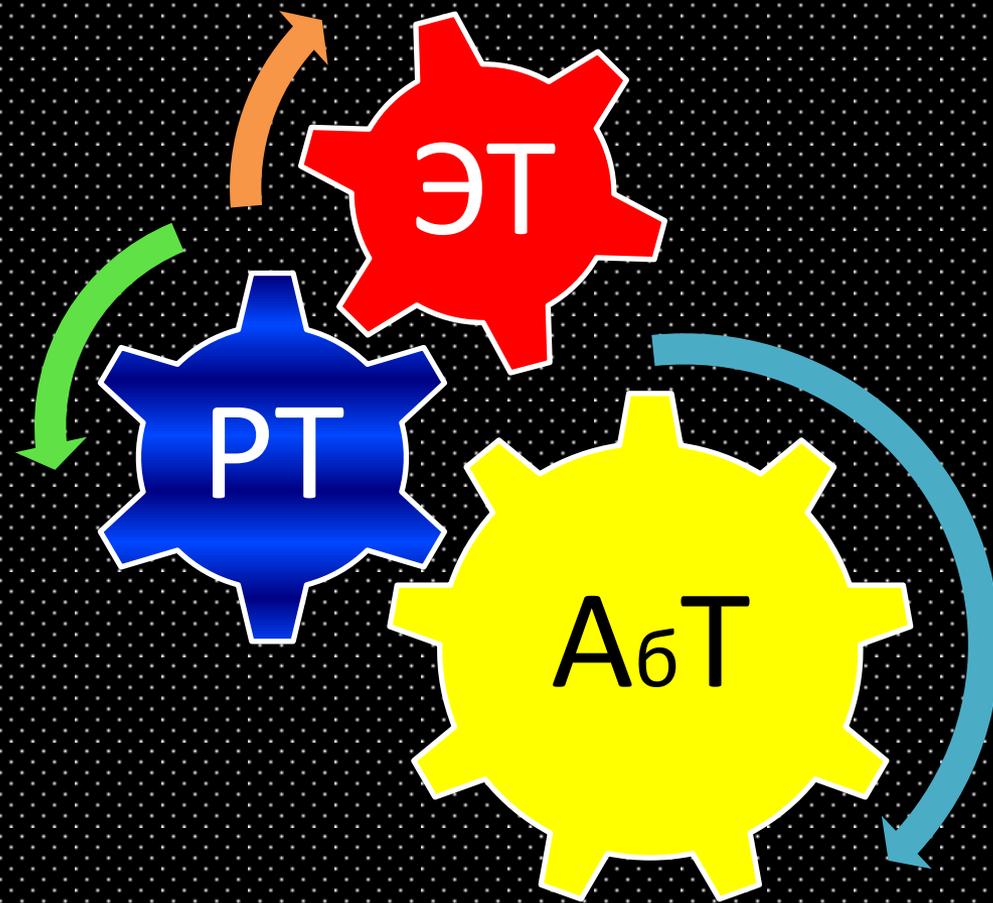
**/как общебиологическая стратегия
выживания вида/**

*[Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан
Г.И. Механизмы выживания бактерий. М.: Медицина, 2005.
367 с.]*



Жизненный цикл хламидий

Структура популяции хламидий, участвующих в инфекционном процессе (упрощённый вариант)



Молекулярные маркёры аберрантных форм хламидий

■ Усиление экспрессии генов, ответственных за выработку хламидийного белка теплового шока - **Chsp60** (неспецифический показатель!)

■ Уменьшение экспрессии генов, ответственных за **МOMP** (main outer membrane protein 60-62 кДа).

■ Комплексная оценка транскрипции маркеров всех стадий дает ответ о переходе бактерии в персистирующее состояние по:

➤ отсутствию транскрипции гена **euo** - маркера стадии преобразования ЭТ в РТ;

➤ отсутствию транскрипции генов **Ftsk, σ-факторов 28 и 66, YgeD** - контролирующих деление РТ хламидий;

➤ отсутствию транскрипции генов **60srp, 15srp, crp, hstA, hstB** – отвечающих за преобразование РТ в ЭТ.

Механизмы персистенции хламидий

- ❖ ингибирование слияния фагосом с лизосомами
- ❖ образование aberrantных форм – «персистентных» телец [Moulder J. W. et al., 1981; Орлова О.Е. и др., 1982]
- ❖ антиапоптозный эффект
- ❖ иммунопатологические реакции:
 - угнетение клеточного звена адаптивного иммунного ответа (Th1)
 - угнетение гуморального звена адаптивного иммунного ответа (Th2)
 - угнетение клеточного звена врождённого иммунитета (особенно макрофагов)
 - аутоиммунные реакции (за счёт Chsp-60 - БТШ)

Белки теплового шока (hsp-60)

- ❖ экспрессировать hsp-60 способны все бактерии и другие клетки в процессе своего нормального функционирования
- ❖ hsp-60 - это мембранный белок стрессового клеточного ответа
- ❖ стрессовые белки быстро синтезируются в ответ на различные физические, химические и физиологические воздействия
- ❖ у человека в норме он входит в состав митохондрий и отвечает за сборку, транспорт и регуляцию АТФ-азной активности

Информативность тестов

Таким образом, теоретически лабораторным подтверждением наличия персистирующей хламидийной инфекции с присутствием aberrantных форм патогена может быть сочетание **обнаружения фрагментов ДНК и и-РНК хламидий в ПЦР, real-time ПЦР и ОТ-ПЦР** со следующими лабораторными признаками:

- ❖ высоким титром сывороточных антител к хламидийному белку Chsp60
- ❖ обнаружением самого Chsp60 в исследуемом материале
- ❖ уменьшением количества МOMP хламидий по данным прямой и непрямой иммунофлуоресценции
- ❖ выявлением мелковакуолярных цитоплазматических включений (МЦПВ) хламидий в культуре клеток

Информативность тестов

- ❖ результатами комплексной оценкой транскрипции маркеров всех стадий дает ответ о переходе бактерии в персистирующее состояние:
 - отсутствие гена *euo* - маркера стадии преобразования ЭТ в РТ;
 - отсутствие генов *Ftsk*, сигма-факторов 28 и 66, *YgeD* - контролирующей деление клеток хламидий;
 - отсутствие генов *60srp*, *15srp*, *crp*, *hstA*, *hstB* – отвечающих за появление зрелых инфекционных ЭТ.



**Однако,
реалии
следующие:**

Однако, реалии следующие:

- ❖ На сегодня многие из этих методов применимы только в научных лабораториях или являются мало специфичными.
- ❖ Кроме того, имеются сложности получения патогена в исследуемом материале:
 - при хронических осложненных формах, связанных с восходящей и экстрагенитальной локализацией патогена, возбудитель мало доступен для анализа;
 - это также подтверждено нашими исследованиями и данными других авторов, что свидетельствует, вероятно, о частичной эрадикации возбудителя и ограничении его в очагах фиброза, формирование которых характерно для хламидийной инфекции.

Однако, реалии следующие:

- **имеющиеся наблюдения говорят о том, что возбудитель, даже без проведения лечения, может при хронизации инфекции периодами не идентифицироваться в половых путях с помощью ПЦР**
- **однако указанный феномен не является свидетельством самоэрадикации возбудителя из организма хозяина**
- **так молекулярно- биологическими методами часто можно обнаружить ДНК хламидий в фаллопиевых трубах, при этом достаточно часто при анализе мазков из уретры и цервикального канала в ПЦР получать её отрицательные результаты**

Варианты обсеменённости хламидиями различных биотопов репродуктивной системы у женщин

| Биотопы | Шейка матки | Полость матки | Придатки | Острота процесса |
|-----------|-------------|---------------|----------|----------------------|
| Вариант 1 | | | | Чаще острый процесс |
| Вариант 2 | | | | Острый и хронический |
| Вариант 3 | | | | Острый и хронический |
| Вариант 4 | | | | Чаще хронический |
| Вариант 5 | | | | Чаще хронический |

Варианты обсеменённости хламидиями различных биотопов репродуктивной системы у мужчин

| Биотопы | Уретра | Предстательная железа | Семенные пузырьки | Придатки яичек и яички | Острота процесса |
|-----------|--------|-----------------------|-------------------|------------------------|----------------------|
| Вариант 1 | ■ | □ | □ | □ | Чаще острый процесс |
| Вариант 2 | ■ | ■ | □ | □ | Острый и хронический |
| Вариант 3 | □ | ■ | □ | □ | Чаще хронический |
| Вариант 4 | ■ | ■ | ■ | □ | Чаще хронический |
| Вариант 5 | ■ | ■ | ■ | ■ | Чаще хронический |
| Вариант 6 | □ | ■ | ■ | ■ | Чаще хронический |
| Вариант 7 | □ | □ | ■ | ■ | Чаще хронический |
| Вариант 8 | □ | □ | □ | ■ | Чаще хронический |

Выводы

- ❑ **Выбор оптимальных диагностических лабораторных тестов при хламидийной инфекции должно зависеть от особенностей инфекционного процесса (в т.ч. её хронизации).**
- ❑ **Нельзя абсолютизировать один какой-либо лабораторный тест – необходимо использовать комплекс, состоящий из прямого (ТАНК) и непрямого (серологический) тестов.**
- ❑ **Из серологических тестов предпочтение необходимо отдавать тестам, основанным на использовании фосфатазно-щелочного конъюгата, как наиболее чувствительного в плане детекции специфических антител.**

Спасибо за внимание

