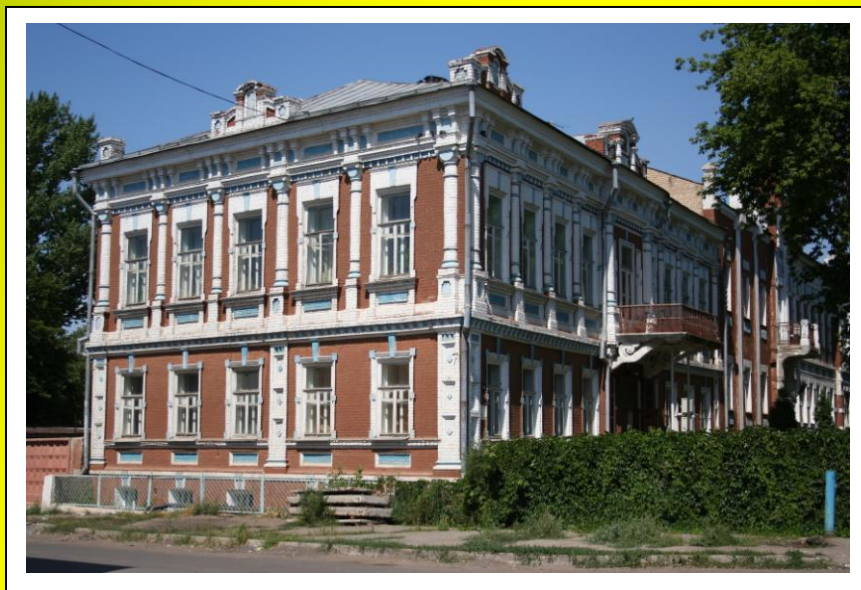


ISSN 2304-9081

**Учредители:**  
Уральское отделение РАН  
Оренбургский научный центр УрО РАН

**Бюллетень**  
**Оренбургского научного центра**  
**УрО РАН**  
(электронный журнал)



**2013 \* № 3**

On-line версия журнала на сайте  
<http://www.elmag.uran.ru>

© С.В. Рищук, 2013

УДК: 616.6

*С.В. Рищук*

## **ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДИЧЕСКИХ РЕКОМЕНДАЦИЙ ПО ОПТИМИЗАЦИИ ДИАГНОСТИКИ РЕПРОДУКТИВНО ЗНАЧИМЫХ ИНФЕКЦИЙ У ПОЛОВЫХ ПАР**

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Обследовано 760 мужчин и 468 женщин, в составе которых были 353 пары, с различными нарушениями в репродуктивной системе. Обоснованы оптимизированные лабораторные комплексы по диагностике репродуктивно значимых инфекций: хламидийной, микоплазменной, трихомонадной и нейссеральной. Представлены практические рекомендации по обследованию половых пар. Проведен сравнительный анализ эффективности предложенных и традиционных лабораторных комплексов по диагностике репродуктивно значимых инфекций у половых партнёров.

Ключевые слова: репродуктивно значимые инфекции, половые пары, оптимизация диагностики.

*S.V. Rishchuk*

## **SUBSTANTIATION OF METHODOLOGICAL RECOMMENDATIONS ON OPTIMIZATION OF DIAGNOSTICS REPRODUCTIVELY SIGNIFICANT INFECTIONS IN SEXUAL COUPLES**

North-Western State Medical University I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

The study involved 760 men and 468 women, which included 353 couples with a variety of disorders of the reproductive system. Justified optimized laboratory facilities for the diagnosis of significant reproductive infections: chlamydia, mycoplasma, trichomonas and neysserialnoy. Present practical recommendations for screening sex couples. A comparative analysis of the effectiveness of the proposed and conventional laboratory facilities for the diagnosis of reproductively relevant infections in sexual partners.

Key words: reproductively significant infection, sex couples, the optimization of diagnostics.

Основной проблемой при репродуктивно значимых инфекциях является сложность лабораторного подтверждения диагноза. Возможными причинами являются следующие: 1) недоступность возбудителей для исследователя при хронизации инфекции; 2) слабая иммуногенность многих патогенов; 3) несовершенство (особенно отечественных) тест-систем.

В связи с этим нами была предпринята попытка оптимизации диагностики репродуктивно значимых инфекций на основании сопоставления ре-

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

На первом этапе был проведен анализ информативности прямых лабораторных тестов в зависимости от давности заражения, то есть от «остроты» инфекции. Нами доказано, что успех их применения зависит не столько от чувствительности и специфичности тест-систем, сколько от «доступности» возбудителя для исследования [15,18]. Возможные варианты расположения возбудителя в различных эпитопах репродуктивной системы мужчин в зависимости от хронизации процесса представлены на рисунке 1 [19].

Эпитопы	Уретра	Предстательная железа	Семенные пузырьки	Придатки яичек и яички	Тип процесса
Вариант 1					Чаще острый
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

Рис. 1. Варианты обсеменённости патогеном различных эпитопов репродуктивной системы у мужчин.

Видно, что при остром процессе у мужчин (заражение до 2-3 месяцев) патогены (хламидии, микоплазмы и трихомонады) чаще располагаются в уретре (варианты 1 и 2) и доступны для исследования. При хронизации инфекции обсеменённость уретры патогеном резко снижается или он из данного эпитопа исчезает совсем и перемещается в предстательную железу, семенные пузырьки, придатки яичек и яички (варианты расположения 3, 6, 7, 8) [15, 18]. Периодически на фоне обострения хронической инфекции патоген может появляться в уретре (варианты 4 и 5), и тогда он доступен для исследования прямыми тестами (в том числе ПЦР). Этому могут способствовать периодические эякуляции и заброс патогена со спермой в уретру из простаты и органов мошонки. Однако основными факторами, полностью или частично

элиминирующими патогены из уретры, могут являться бактерицидные компоненты мочи, что и ограничивает применение прямых тестов. Использование секрета для исследования практически не улучшает диагностические возможности, вероятно, из-за скудности в нём клеточного материала. Применение эякулята в качестве биоматериала для определения патогенов прямыми тестами значительно улучшает диагностику данных репродуктивно значимых инфекций. Последний является интегральным продуктом экскреции нескольких органов-биотопов – яичек, семенных пузырьков, предстательной железы, а также желёз Литтре и Купера [22].

У женщин применение прямых методов также зависит не только от их чувствительности и специфичности, но и «доступности» возбудителя для исследования. Возможные варианты нахождения возбудителя в различных эпитопах репродуктивной системы женщин в зависимости от хронизации процесса представлены на рисунках 2 и 3.

Эпитопы	Вагина	Шейка матки	Полость матки	Придатки матки	Острота процесса
Вариант 1					Чаще острый
Вариант 2					Чаще острый
Вариант 3					Чаще хронический
Вариант 4					Чаще хронический
Вариант 5					Хронический
Вариант 6					Хронический
Вариант 7					Хронический

Рис. 2. Варианты обсеменённости микоплазмами и трихомонадами различных эпитопов репродуктивной системы у женщин.

Облегчает ситуацию то, что микоплазмы (уреаплазмы) и трихомонады даже при хронизации инфекции часто находятся в вагине и эндоцервиксе (варианты 3 и 4) и поэтому достаточно хорошо определяются прямыми методами, из которых предпочтительнее ПЦР (при хламидийной и микоуреаплазменной инфекции) и культуральный (при трихомонадной и микоуреаплазменной инфекции). При трихомонадной инфекции (по нашим данным) ПЦР не коррелирует ни с одной клинической ситуацией, и поэтому необходимо отдавать предпочтение только культуральному исследованию. Остальные прямые методы по чувствительности и специфичности существенно уступа-

ют выше указанным, и поэтому для подтверждения диагноза данных заболеваний их применение нецелесообразно.

Использование прямых лабораторных тестов для идентификации *Chlamidia trachomatis* у женщин эффективно только при нахождении патогена в шейке матки – это первичный эпителий при инфицировании половых путей, к эпителию которого тропен возбудитель. На рисунке 3 – это варианты 1, 2 и 3 с обсеменённостью хламидиями эпителиев, которые чаще встречаются при «свежем» инфицировании половых путей (острый процесс). В этом случае предпочтение отдаётся молекулярно-генетическим амплификационным методам. Однако на практике эти варианты встречаются достаточно редко.

Эпитопы	Шейка матки	Полость матки	Маточные трубы	Острота процесса
Вариант 1				Чаще острый
Вариант 2				Острый и хронический
Вариант 3				Острый и хронический
Вариант 4				Чаще хронический
Вариант 5				Чаще хронический

Рис. 3. Варианты обсеменённости хламидиями различных эпителиев репродуктивной системы у женщин.

При хронизации инфекции локализация хламидий в эпителиях чаще бывает в виде вариантов 4 и 5, когда любые прямые тесты неэффективны из-за недоступности патогена. Сложности его обнаружения в исследуемом материале при хронических осложнённых формах связаны с проксимальной и экстрагенитальной локализацией патогенов [11]. Это подтверждено нашими исследованиями и данными других авторов, что свидетельствует, вероятно, о частичной «эрадикации» возбудителя и его «инкапсулировании» в очагах фиброза, формирование которых характерно для хламидийной инфекции [24, 31, 39, 41]. 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 самосанации организма хозяина [29, 36]. Так, молекулярно-биологическими методами можно обнаружить ДНК хламидий в фаллопиевых трубах, и при этом достаточно часто получать отрицательные результаты ПЦР при анализе мазков из уретры и цервикального канала.

Таким образом, при «свежем» заражении и формировании острых воспалительных очагов выявляемость патогена прямыми тестами намного выше, чем при хронизации инфекции.

Однако имеются особенности применения прямых тестов при хламидийной инфекции. Даже при немногочисленных случаях нахождения патогена в цервикальном канале (рис. 3; варианты 2 и 3) при хронизации хламидийной инфекции имеются сложности его идентификации из-за формирования внутриклеточных персистентных (аберрантных) форм – как проявления адаптации к неблагоприятным условиям сосуществования с макроорганизмом при инфекционном процессе [5, 10, 14, 42]. В таких ситуациях из прямых методов для диагностики персистирующей инфекции не применимы прямая и непрямая иммунофлуоресценция, так как они основаны на обнаружении светящихся комплексов антигенов возбудителя - основного белка наружной мембраны (МOMP – *main outer membrane protein*) и липополисахарида (ЛПС), находящихся на поверхности ЭТ хламидий, расположенных внеклеточно. При персистенции блокирована продукция МOMP и ЛПС, патоген находится внутриклеточно, а ЭТ выявляются лишь в 8,2 % случаев [2].

Метод культуры клеток также малоэффективен, так как в одном пассаже в культуре клеток хламидии при персистирующей инфекции, как правило, не выделяются вследствие неинфекционности и непродуктивности аберрантных включений [3, 4, 37]. Только при многократных пересевах, в результате которых снимается влияние факторов персистенции, может наступить реверсия микроорганизмов с образованием типичных ЭТ и РТ.

В последние годы большое внимание уделяется определению белка теплового шока хламидий *hsp60* – *heat shock protein* 60 кДа (Chsp60), а также специфических к нему антител. Однако доказана его 50% гомология с таким же белком человека - *hsp-60*, который является мембранным белком стрессового клеточного ответа и синтезируется 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. Экспрессировать *hsp-60* способны также все бактерии и другие клетки в процессе своего нормального функционирования. Поэтому определение Chsp60 малоспецифично.

Самым перспективным методом детекции аберрантных (некультивируемых) форм бактерий (в том числе хламидий) в последнее время стал мо-

лекулярно-генетический метод, основанный на полимеразной цепной реакции (ПЦР, real-time ПЦР) [28, 34, 45]. Он позволяет выявлять уникальную для искомого микроорганизма нуклеотидную последовательность, присутствующую в исследуемом образце в минимальном количестве и не поддающуюся обнаружению другими методами. При использовании ПЦР можно многократно (в  $10^6$ - $10^8$  раз) размножить или амплифицировать эту последовательность. Методический подход на основе ПЦР дает возможность обойти основную трудность, связанную с тестированием находящихся в некультивируемом состоянии бактерий, так как их размножение можно заменить амплификацией видоспецифичного для данной бактерии фрагмента ДНК.

Однако часть исследователей считает не вполне правомочным использование метода классической ПЦР для выявления некультивируемых форм бактерий из-за возможности индикации не только жизнеспособных некультивируемых клеток, но и мертвых, содержащих генетический материал. Методом, исключающим этот недостаток, является сочетание ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Маркером присутствия и жизнеспособности бактерий в этом случае служит короткоживущая специфическая молекула и-РНК заведомо экспрессирующегося в некультивируемых формах известного исследователю гена. По наличию в полученном из образца препарате суммарной РНК и-РНК изучаемого гена можно судить о его активности, а следовательно - о жизнеспособности искомым бактерий [1].

Самым современным методом подтверждения aberrантных форм хламидий является электронная микроскопия и комплексная оценка транскрипции маркеров всех стадий: а) отсутствие гена *euo* - маркера стадии преобразования ЭТ в РТ; б) отсутствие генов *Ftsk*, сигма-факторов 28 и 66, *YgeD*, контролирующих деление клеток хламидий; в) отсутствие генов *60srp*, *15srp*, *srp*, *hstA* и *hstB*, отвечающих за появление зрелых инфекционных ЭТ. Однако эти методы не применимы в лабораториях практического здравоохранения из-за сложности их проведения.

Таким образом, метод ПЦР позволяет идентифицировать хламидии в эпителии, доступном для взятия материала, при их нахождении в данном эпителии. Однако доказать наличие aberrантных форм и определить их удельный вес в популяции патогена в данном эпителии сегодня на практике не представляется возможным.

Нами проведено сопоставление определения патогенов в ПЦР в уретре

и эякуляте (табл. 1). Видно, что встречались варианты обнаружения ДНК-материала хламидий и микоплазм только в эякуляте и только в уретре [22].

Таблица 1. Варианты выявления ДНК-материала хламидий и микоплазм в уретре и эякуляте у мужчин

Уретра	Эякулят	<i>C. trachomatis</i>		<i>M. hominis</i>		<i>M. genitalium</i>		<i>Ureaplasma spp.</i>	
		n	%	n	%	n	%	n	%
+	+	5	1,47	14	4,28	2	0,71	56	16,37
+	--	3	0,88	27	8,26	3	1,06	38	11,11
--	+	7	2,06	16	4,89	2	0,71	10	2,92
--	--	324	95,58	270	82,57	275	97,52	238	69,59
Σ		339	100	327	100	282	100	342	100

Наличие случаев несовпадения положительных результатов в уретре и эякуляте предполагает взятие материала для постановки ПЦР-теста в процессе диагностического поиска из этих эпитопов в разные эппендорфы. Возможно, происходит ингибирование ПЦР в эякуляте липидами или ещё окончательно не установленными его компонентами.

Нами было также проведено сопоставление выявления ДНК-материала микоплазм в уретре и эякуляте у мужчин с результатами посева эякулята на жидкие питательные среды (табл. 2). Соскобный материал из уретры и эякулят вносились одновременно в один эппендорф для ПЦР и пробирки для культурального теста.

Таблица 2. Сопоставление результатов определения урогенитальных микоплазм в ПЦР и культуральном тесте у мужчин

Обнаружение в ПЦР	Обнаружение в посеве	<i>M. hominis</i>		<i>Ureaplasma spp.</i>	
		N	%	N	%
+	+	0	0	7	8,14
+	--	3	3,49	10	11,63
--	+	12	13,95	5	5,81
--	--	71	82,56	64	74,42
Σ		86	100	86	100

Наличие вариантов с обнаружением патогенов только в ПЦР или только в посеве предполагает обязательное применение обоих тестов в диагностических блоках у мужчин. Можно предполагать, что положительный результат только в ПЦР определяется низким качеством жидких питательных сред и/или незначительной обсеменённостью биопроб патогеном, а также большей чувствительностью ПЦР по сравнению с культуральным тестом. Положительный результат только в посеве может быть результатом ингиби-



рования ПЦР компонентами эякулята при достаточной обсеменённости половых путей микоплазмами. Однако вызывает сомнение критерий оценки роста *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* (особенно, на отечественных питательных средах) – по изменению цвета индикатора на изменение pH среды, так как последний может изменяться не только при накоплении микоплазм, что приводит к ложноположительным результатам. Это предполагает введение других, более объективных, критериев оценки указанного культурального теста или повышения селективности питательных сред.

Кроме того проведено сопоставление микроскопии, посева в жидкие питательные среды и ПЦР при трихомониазе у мужчин. Доказана более высокая эффективность посева по сравнению с нативной микроскопией и, особенно, с другими методами в установлении диагноза трихомониаза [43]. По нашим данным и по результатам исследований, проведенных в Институте клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург), эффективность посевов намного выше при добавлении в питательную среду эякулята [7, 8]. При этом для культивирования трихомонад использовались жидкие питательные среды производства HiMedia Laboratories Pvt.Ltd (Индия) и НПО «Питательные среды» (Россия). В таблице 3 представлена сравнительная характеристика эффективности микроскопии и культурального метода при хроническом урогенитальном трихомониазе у 50 мужчин репродуктивного возраста.

Таблица 3. Эффективность микроскопического и культурального методов при диагностике хронического урогенитального трихомониаза у мужчин [7]

Метод	Выявление трихомонад, %		
	только в уретре	только в эякуляте	в уретре и эякуляте
Микроскопия окрашенного мазка	30,0 ± 6,5	4,0 ± 2,8	8,0 ± 3,9
Посев материала на питательную среду (культуральный метод)	26,0 ± 6,3	18,0 ± 5,5	56,0 ± 7,1

При этом необходимо обращать внимание на следующие моменты. Посев материала в питательную среду позволяет определить трихомонады в отделяемом уретры в 1,9 раза, а в эякуляте - в 6,2 раза чаще, чем при использовании световой микроскопии окрашенных мазков. Причем во всех случаях, когда в мазках при микроскопии обнаруживались трихомонады, культуральный метод также давал положительные результаты. С другой стороны, при

отсутствии трихомонад в посевах отделяемого из уретры или эякулята результаты микроскопии мазков также были отрицательными [7].

Безусловным достоинством культурального метода диагностики хронического трихомониаза у подростков и мужчин является его более высокая эффективность при выявлении *T. vaginalis* не столько в уретре, сколько в эякуляте, что важно для определения вовлечения простато-везикулярного комплекса в патологический процесс. Однако наличие случаев определения трихомонад культуральным методом только в уретре (26%) и только в эякуляте (18%) предполагает одновременный посев в жидкую среду соскобного материала из уретры и эякулята.

Необходимо помнить о том, что эффективность данного метода существенно зависит от качества используемых питательных сред для выращивания трихомонад, наличия в исследуемом материале достаточного количества патогенов, которое, в свою очередь, зависит от соблюдения правил забора, хранения и посева материала, от особенности течения (остроты) инфекционного процесса, иммунологической реактивности макроорганизма, проводимой терапии, а также от использования культурального исследования эякулята.

Аналогичная закономерность сохраняется при сопоставлении культурального теста и микроскопии у женщин (табл. 4).

При этом обращают на себя внимание случаи с положительной микроскопией и отрицательным культуральным тестом. На наш взгляд, это может быть свидетельством некультивируемости или низкой культивируемости некоторых форм трихомонад особенно в процессе хронизации и предшествующей антипротозойной терапии (их превращение в нетипичные формы). Многочисленные случаи положительного результата посева и отрицательной микроскопии (особенно у мужчин) – свидетельство сложности микроскопической идентификации нетипичных форм трихомонад в процессе хронизации инфекции (идентичность трихомонад и ядер полуразрушенных клеток мужской уретры, ядер базальных и парабазальных клеток вагины, обилие сопутствующей анаэробной микрофлоры в вагине).

Хорошей альтернативой фиксированному окрашенному мазку может быть нативная микроскопия утреннего осадка мочи у мужчин и эндоцервикальной слизи у женщин. Однако в процессе хронизации инфекции и её лечения возможно появление безжгутиковых форм трихомонад, которые доста-

точно сложно определяются в данном лабораторном тесте. При этом обязательным является незамедлительность нативной микроскопии после взятия материала, что предполагает совмещение лабораторной базы с местом врачебного приёма.

Таблица 4. Подтверждение трихомоноза у женщин и мужчин (сравнение методов)

Мужчины (n=198)		N	%	Женщины (n=231)		N	%
Мазок	Посев			Мазок	Посев		
+	+	2	1,01	+	+	4	1,73
+	--	3	1,52	+	--	9	3,90
--	+	70	35,35	--	+	41	17,75
--	--	123	62,12	--	--	177	76,62
Σ		198	100	Σ		231	100

*Примечания:* у мужчины учитывались результаты микроскопии соскоба из уретры и секрета предстательной железы; у женщин учитывались результаты микроскопии соскоба из цервикального канала и вагины.

При сопоставлении лабораторного и клинического материала отсутствовала какая-либо корреляция между данными ПЦР, серологическими показателями и клинической проблематикой при трихомонадной инфекции.

Очень важным и противоречивым является вопрос о целесообразности количественных тестов при репродуктивно значимых инфекциях [8, 22]. Количественная оценка патогенов возможна в двух вариантах постановки прямых тестов: а) в посевах на плотных и в жидких питательных средах (микоплазм); б) с помощью *real-time* ПЦР (микоплазм и хламидий). Положительным моментом является решение вопроса о причинно-следственных связях между формированием воспалительного очага и обсеменённостью патогеном данного эпитопа, где сформирован очаг. Однако имеются некоторые факторы, которые ограничивают применение этого критерия или приводят к его абсурдности. Во-первых, если говорить о взятии материала из слизистых оболочек, то на сегодня отсутствует стандартизация забора материала для любого варианта количественного теста, а перерасчёт КОЕ/мл, ЦОЕ/мл или ДНК/мл возможен только на жидкие или полужидкие субстраты (кровь, ликвор, моча, эякулят и т.д.). Во-вторых, если значимый в плане формирования воспалительного очага уровень обсеменённости в КОЕ/мл установлен (например для микоплазм –  $10^4$ ), то для облигатного паразита (хламидий) разговор о КОЕ/мл или ЦОЕ/мл нельзя вести вообще, так как они не растут внеклеточно, не образуют колоний и не меняют цвет среды; а клиническое зна-

чение количества ДНК в единице объёма материала пока не установлено. В-третьих, нельзя оценивать обсеменённость патогеном одного эпитопа по обсеменённости другого – доступного для исследования прямыми количественными тестами (в случае вариантов 2, 4, и 5 на рис. 1; вариантов 3, 4 на рис. 2; вариантов 2 и 3 на рис. 3); сопоставление оценки обсеменённости патогеном эпитопа и формирования характерного воспалительного очага информативно только в конкретном эпитопе, доступном для взятия материала.

При восходящей инфекции в случае её хронизации и отсутствия патогена в первичных эпитопах (в уретре, вагине и эндоцервиксе) становится крайне необходимым для подтверждения диагноза применение косвенных (преимущественно, серологических) методов. Однако далеко не при всех репродуктивно значимых инфекциях возможно их успешное использование.

Постановка серологических тестов (IgM и IgG) при микоплазменной инфекции не информативна из-за их низкой чувствительности и специфичности в сравнении с культуральным исследованием и ПЦР [38]. Серодиагностика микоплазм и уреаплазм весьма затруднительна в связи с существованием большого числа серотипов этих возбудителей, поверхностной фенотипической вариабельностью ЛПС-комплексов и сложностью производства тест-систем, включающих стандартные антисыворотки [12, 13, 30]. Кроме того гуморальные антитела к *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* могут присутствовать у клинически здоровых лиц, а инфицирование не всегда сопровождается повышением уровня специфических антител. Однако для подтверждения острой микоуреаплазменной инфекции в комплексе с другими лабораторными тестами можно определять увеличение титра антител класса М (диагностического 4-кратного увеличения) в парных сыворотках, взятых с разницей в 7-10 дней. При хронической инфекции также возможно определение титров IgG и IgM в сыворотке крови. В то же время нередко продукция последних продолжается в течение многих месяцев после инвазии возбудителя и не может указывать на недавнее инфицирование за исключением нарастания их титра в парных сыворотках [40].

Урогенитальные трихомонады также низкоиммуногенны, поэтому (по нашим данным) наличие/отсутствие к ним антител не коррелирует с результатами посевов и клинической ситуацией.

При хламидийной инфекции (по аналогии с сифилисом) возможно довольно успешное применение косвенных тестов. При отсутствии хламидий в

эндоцервиксе у женщин (варианты 4 и 5 обсеменённости эпителиев на рис. 3), а также в уретре у мужчин (варианты 3, 6, 7 и 8 обсеменённости эпителиев на рис. 1), то есть в случае восходящей инфекции и их нахождения в клетках моноцитарно-макрофагальной системы, единственным способом подтверждения инфекции является группа косвенных методов, определяющих различные варианты адаптивного иммунного ответа.

Разновидность адаптивного иммунного ответа при хламидийной инфекции будет зависеть от локализации патогена: при внеклеточном его расположении (элементарные тельца – ЭТ) – гуморальный (Th2-клетки, В-клетки, антитела), при внутриклеточном гранулярном расположении (ретикулярные и аберрантные тельца – РТ и АБТ) – клеточно-воспалительный (Th1-клетки, цитокины, макрофаги). Возможно и их внутриклеточное цитозольное расположение. Тогда формируется клеточно-цитотоксический иммунный ответ (цитотоксические Т-лимфоциты) [9, 23]. В практическом здравоохранении из косвенных методов используют преимущественно определение специфических антител (IgM – при свежем заражении, IgG и IgA – при хронизации) в сыворотке крови и секреторные IgA (sIgA) в биожидкостях (эякуляте и эндоцервикальной слизи).

Однако доказана низкая чувствительность отечественных тест-систем (Вектор-Бест, Новосибирск), основанных на пероксидазной реакции в сравнении с зарубежными тест-системами (ИммуноКомб - Orgenics-Биоград) для определения специфических IgG и IgA в сыворотке крови и других биоматериалах с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата. В связи с этим заслуживает внимание сопоставление результативности исследования на хламидиоз сыворотки крови на тест-системах Orgenics (Франция-Израиль) с тест-системах Вектор-Бест (Новосибирск), а также соскобного материала в ПЦР. Обращает внимание отсутствие подтверждения положительных результатов по IgG и IgA к хламидиям, полученных на тест-системах ИммуноКомб (Orgenics-Биоград), с результатами определения данных специфических иммуноглобулинов на тест-системах Вектор-Бест (Новосибирск) у мужчин и женщин (табл. 5 и 6), а также с результатами ПЦР в соскобном материале: у мужчин - несовпадение по IgG в 28% случаев, по IgA – в 42%, у женщин – несовпадение по IgG в 32%, по IgA – в 40% [21].

В то же время нами получены достоверные корреляции положительных серологических тестов на зарубежных тест-системах с использованием

фосфатазно-щелочного конъюгата с клиническими проблемами у женщин и мужчин [16, 17]. У женщин сочетание IgG к *C. trachomatis* и IgA к *C. trachomatis* наиболее часто встречалось при спаечных процессах в малом тазу, бактериальном вагинозе, а также при хронических воспалительных процессах в органах мочевыделительной системы.

Таблица 5. Сравнение результатов серологических тестов (IgG и IgA) по хламидиозу на т/с Orgenics и Вектор Бест у мужчин

т/с Orgenics-Биоград	т/с Вектор Бест	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

Таблица 6. Сравнение результатов серологических тестов (IgG и IgA) по хламидиозу на т/с Orgenics и Вектор Бест у женщин

т/с Orgenics-Биоград	т/с Вектор Бест	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

Установлена связь между неудачным ЭКО и наличием изолированных IgA к *C. trachomatis* в сыворотке без IgA в эякуляте у мужчин. Отягощённый акушерский и гинекологический анамнез у женщин коррелирует с сочетанием IgA к *C. trachomatis* в сыворотке крови 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 крови 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 крови и IgA к *C. trachomatis* в эякуляте.

Таким образом, при хронизации хламидийной инфекции обнаружение возбудителя в ПЦР у женщин и мужчин имеет место в редких случаях и не коррелирует ни с одной клинической ситуацией. Определение специфических

противохламидийных иммуноглобулинов в сыворотке крови на т/с Вектор-Бест (Россия) с использованием конъюгата с пероксидазой хрена у женщин и мужчин также не коррелирует ни с одной клинической ситуацией [16, 17].

Связь бесплодия и других клинических проблем с наличием антихламидийных антител была подтверждена работами многих зарубежных авторов [26, 33, 35]. Однако наличие aberrантных форм серологически доказать не представляется возможным, так как определение антител к Chsp60, как и самого белка, малоспецифично. Хотя вследствие почти 50% гомологии с таким же белком человека, он индуцирует образование специфических антител и состояние гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) [27, 44]. Доказано, что антитела класса IgA к hsp60 хламидий доминируют у женщин с первичным бесплодием и у женщин с повторяющимися спонтанными абортами [25]. Подтверждена транскрипция генов hsp60 хламидиями, локализованными в синовиальной оболочке при реактивных артритах [32].

С учётом полученных данных, нами сформированы диагностические комплексы, наиболее оптимальные для лабораторного подтверждения репродуктивно значимых инфекций.

**Практические рекомендации по обследованию половых партнёров на хламидийную, уреамикоплазменную, трихомонадную и нейссерияльную инфекции.**

**На хламидийную инфекцию (*Chlamydia trachomatis*).**

**У мужчин:**

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).

3. Исследование соскобного материала из уретры и **отдельно** эякулята в ПЦР (предпочтительно использовать *real-time PCR* в качественной постановке производства «АмплиСенс» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Моск-

ва). 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.

**У женщин:**

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.

**На микоплазменную инфекцию**

***(Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum).***

**У мужчин:**

1. Исследование соскобного материала из уретры и **отдельно** эякулята в ПЦР (забор в разные эппендорфы). 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.

2. Исследование соскобного материала из уретры и эякулята в посеве на жидкую питательную среду (ЖПС). Возможно **смешивание** материала из уретры и эякулята в отдельной среде для *Mycoplasma hominis* и в отдельной - для *Ureaplasma spp.* Предпочтительны Европейские системы (например «*Mycoplasma duo*» Sanofi diagnostics Pasteur или «*BioMerieux*», Франция).



**У женщин:**

1. Исследование соскобного материала из эндоцервикса и вагины в ПЦР (возможно смешивание материала в **одном** эппендорфе). Предпочтительно использовать *real-time* PCR в качественной постановке производства «АмплиСенс» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва.

2. Исследование соскобного материала из эндоцервикса и вагины в посеве на ЖПС. Возможно **смешивание** материала из эндоцервикса и вагины в отдельной среде для *Mycoplasma hominis* и в отдельной - для *Ureaplasma spp.* Предпочтительны Европейские системы (например «*Mycoplasma duo*» *Sanofi diagnostics Pasteur* или «*BioMerieux*», Франция).

**На микоплазменную инфекцию (*Mycoplasma genitalium*):**

**У мужчин:**

Исследование соскобного материала из уретры и **отдельно** эякулята в ПЦР (забор в разные эппендорфы). 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.

**У женщин:**

Исследование соскобного материала из эндоцервикса и вагины в ПЦР (возможно **смешивание** материала в одном эппендорфе). Предпочтительно использовать *real-time* PCR в качественной постановке производства «АмплиСенс» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва.

**На трихомонадную инфекцию (*Trichomonas vaginalis*):**

**У мужчин:**

1. Световая микроскопия фиксированного соскобного материала из уретры.

2. Нативная микроскопия отделяемого из уретры и эякулята (светлополюсная или тёмнополюсная) – способ раздавленной капли.

или (что более предпочтительно)

Нативная микроскопия утреннего осадка свежей мочи (светлополюсная или тёмнополюсная) – способ раздавленной капли.

3. Посев соскобного материала из уретры и эякулята (**в одну пробирку**) в жидкую питательную среду (предпочтительно импортная – например,

HiMedia Laboratories Pvt. Limited - Индия). **Инкубация при 36<sup>0</sup>С – до 5-7 суток!**

или (хуже)

Культуральный посев утреннего осадка свежей мочи на жидкую питательную среду (предпочтительно импортная – например, HiMedia Laboratories Pvt. Limited - Индия). **Инкубация при 36<sup>0</sup>С – до 5-7 суток!**

**У женщин:**

1. Световая микроскопия фиксированного соскобного материала из эндоцервикса и вагины.

2. Нативная микроскопия отделяемого из эндоцервикса и вагины (светлополюсная или тёмнополюсная) – способ раздавленной капли.

3. Посев соскобного материала из эндоцервикса и вагины (**в одну пробирку**) на жидкую питательную среду (предпочтительно импортная – например, HiMedia Laboratories Pvt. Limited - Индия). **Инкубация при 36<sup>0</sup>С – до 5-7 суток!**

**На нейссерияльную инфекцию (*Neisseria gonorrhoeae*):**

**У мужчин:**

1. Световая микроскопия фиксированного соскобного материала из уретры.

2. Исследование соскобного материала из уретры и **отдельно** эякулята в ПЦР (забор в разные эппендорфы). 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.

**У женщин:**

1. Световая микроскопия фиксированного соскобного материала из эндоцервикса и вагины.

2. Исследование соскобного материала из эндоцервикса и вагины в ПЦР (возможно **смешивание** материала в одном эппендорфе). Предпочтительно использовать *real-time* PCR в качественной постановке производства «АмплиСенс» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва.

Подтверждающими инфекцию тестами у женщин и мужчин должны быть следующие: 1) при микоплазменной инфекции – положительная ПЦР

или *real-time* ПЦР и/или положительный результат посева (для *M. hominis*, *Ureaplasma spp.*); 2) при нейссеральной инфекции – положительная ПЦР или *real-time* ПЦР; 3) при трихомонадной инфекции – положительный результат посева и/или нативной микроскопии; 4) при хламидийной инфекции – сочетание тестов, указанных в таблице 7 [15, 18, 20].

Таблица 7. Критерии лабораторного подтверждения диагноза хронической урогенитальной хламидийной инфекции у женщин и мужчин

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

Ниже представлена результативность применения данных оптимизированных лабораторных комплексов в сопоставлении с общепринятыми традиционными тестами, которые включали: световую микроскопию соскобов из цервикального канала и вагины – у женщин, соскобов из уретры и секрета предстательной железы – у мужчин; определение ДНК *S. trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *M. genitalium*, *Ureaplasma species*, *N. gonorrhoeae* и *Trichomonas vaginalis* методом ПЦР («АмплиСенс» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) [6]. В рекомендованный Минздравом РФ комплекс входило также определение специфических противохламидийных IgG и IgA в сыворотке крови на тест-системах ИФА производства Вектор-Бест (Новосибирск) с использованием пероксидазной реакции.

В таблице 8 отражена выявляемость репродуктивно значимых инфекций у мужчин и женщин с использованием традиционного и оптимизированного (применение предложенного диагностического комплекса) подходов.

Используя оптимизированные диагностические комплексы, был проведен анализ частоты подтверждения репродуктивно значимых инфекций

(хламидийной, микоплазменной и трихомонадной) в парах (табл. 9). Обращает внимание достаточно большое количество пар с доказанной инфекцией только у одного из партнёров.

Таблица 8. Диагностика репродуктивно значимых половых инфекций с учётом оптимизации (на примере 353 пар)

Оптимизация	Количество случаев (в %)							
	<i>C. trachomatis</i>		<i>M. hominis, M. genitalium</i>		<i>Ureaplasma species</i>		<i>T. vaginalis</i>	
	Жен.	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.	Муж.
До оптимизации	4,3	1,8	13,1	0,8	29,3	8,5	6,2	3,1
После оптимизации	48,5	50,9	17,3	11,0	50,3	24,9	26,2	39,9
p	< 0,0001	< 0,0001	--	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Таблица 9. Выявляемость инфекций у половых пар (n=353)

Положительные тесты у партнёров	Половые инфекции							
	<i>C. trachomatis</i>		<i>M. hominis, M. genitalium</i>		<i>Ureaplasma species</i>		<i>T. vaginalis</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%
У обоих	96	28,24	6	3,47	44	22,80	21	11,48
Только у женщин	69	20,29	24	13,87	53	27,46	27	14,75
Только у мужчин	77	22,65	13	7,51	4	2,07	52	28,42
Отсутствие у обоих	98	28,82	130	75,14	92	47,67	83	45,36
Σ	340	100	173	100	193	100	183	100

В дальнейшем нами была изучена динамика клинико-лабораторных показателей по хламидийной (у 10 пар) и микоплазменной (у 14 пар) инфекциям при лечении только одного партнёра (чаще женщины) с подтверждённым диагнозом. Контрольную группу составили пары с доказанной инфекцией у одного партнёра (у 13 пар – с хламидийной инфекцией и у 16 пар – с микоплазменной), у которых лечение проводилось обоим представителям пары.

Динамическое наблюдение в течение 28 недель половой жизни пар, из которых 16 недель - с применением презерватива и в последующие 12 недель – без него, показало во всех (!) случаях неудачное лечение (реинфекция у излеченных женщин от мужчин с отрицательными тестами) в парах с лечением одного партнёра и отсутствие случаев реинфекции в парах с лечением обоих партнёров [15, 18].

На рисунках 4 и 5 представлена результативность применения оптимизированного комплекса, по сравнению с исходным, а также повышение эффективности определения инфекций в парах с использованием положительных тестов у одного из половых партнёров (установление диагноза «по контакту»).

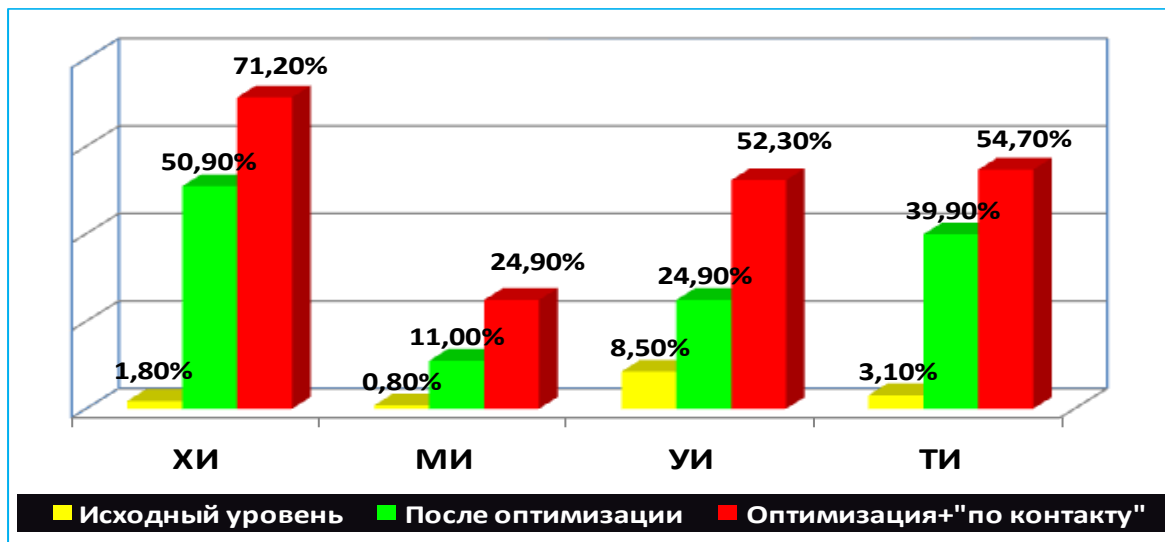


Рис. 4. Повышение эффективности установления диагноза СТЗ у мужчин с учётом результатов исследования полового партнёра.

Обозначения (для рис. 4 и 5):

ХИ - хламидийная инфекция (*Chlamydia trachomatis*);

МИ - микоплазменная инфекция (*Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*);

УИ - уреоплазменная инфекция (*Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*);

ТИ - трихомонадная инфекция (*Trichomonas vaginalis*)

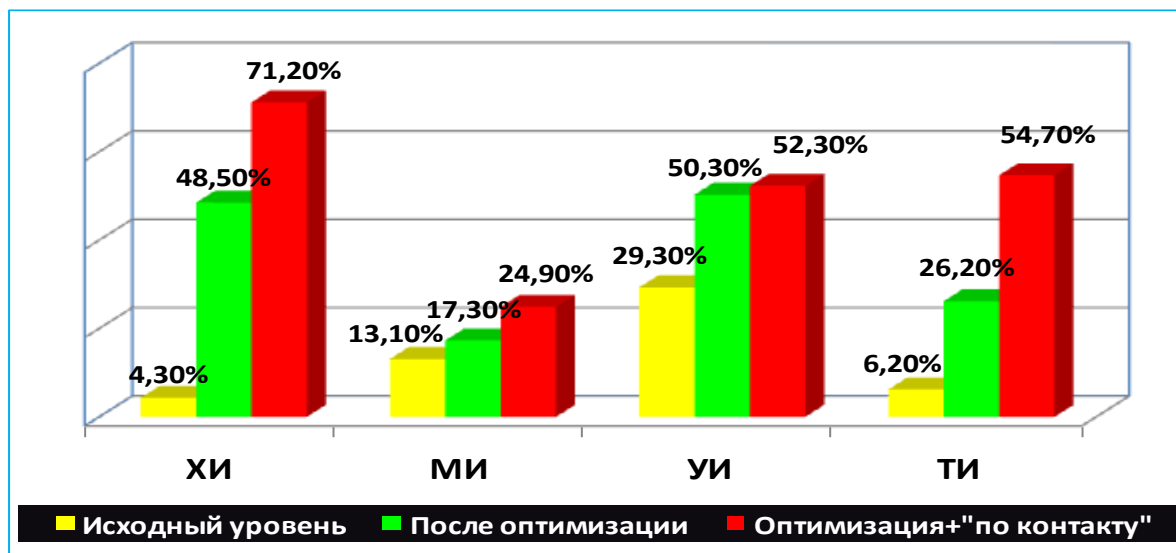


Рис. 5. Повышение эффективности установления диагноза СТЗ у женщин с учётом результатов исследования полового партнёра.

Таким образом, половую пару необходимо рассматривать как «единое целое» или единую инфекционную систему: при подтверждении инфекции у одного партнёра имеет место обязательное инфицирование другого (при поло-

вой жизни без презерватива). Нами получено клинико-лабораторное подтверждение правомочности постановки диагноза «по контакту» и назначения лечения обоим партнёрам при их половой жизни без барьерных методов защиты.

Существенное увеличение выявляемости репродуктивно значимых инфекций в результате оптимизации диагностического процесса указывает на низкую эффективность «традиционной» диагностики и свидетельствует о «скрытой» эпидемии данных инфекций среди лиц репродуктивного возраста.

### **Выводы**

1. Информативность тех или иных лабораторных тестов при подтверждении инфекции не одинакова при различной репродуктивно значимой патологии и зависит от особенностей возбудителя, выраженности иммунных реакций макроорганизма, давности инфекционного процесса, а также качества используемых тест-систем.

2. Половую пару необходимо рассматривать как «единую инфекционную систему»: при наличии инфекции у одного партнёра – обязательно наблюдается инфицирование другого (при половой жизни без презерватива).

3. Применение оптимизированного лабораторного комплекса может существенно повысить выявляемость репродуктивно значимых инфекций. В то же время большое количество случаев установления диагноза «по контакту» требует их дальнейшего совершенствования.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Аляпкина Ю.С., Романова Ю.М., Алексеева Н.В. и др. Разработка количественного варианта ПЦР и применение его для оценки экспрессии генов. Генетика. 2000. Т. 36 (7): 994–999.
2. Битти В. Л. Персистенция хламидий: от клеточных культур до патогенеза хламидийной инфекции. ЗППП. 1995. № 6: 3-18.
3. Брагина Е.Е., Дмитриев Г.А., Кисина В.И. Структурно- функциональные особенности жизненного цикла хламидий *in vitro*. Вестн. дерматол. и венерол. 1995. Т. 6: 18-22.
4. Брагина Е.Е., Орлова О.Е., Дмитриев Г.А. Некоторые особенности жизненного цикла хламидий. Атипичные формы существования. ЗППП. 1998. №1: 3-9.
5. Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан Г.И. Механизмы выживания бактерий. М.: Медицина, 2005. 367 с.
6. Ведение больных инфекциями, передаваемыми половым путём, и урогенитальными инфекциями: клинические рекомендации Российского общества дерматовенерологов и косметологов. М.: Издательский дом «Деловой экспресс». 2012. 112 с.
7. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б., Андрейчев В.В. Особенности клинико- микробиологической диагностики хронического урогенитального трихомоноза у мужчин: справочник заведующего КДЛ. 2009. № 7: 37-45.
8. Мирский В.Е., Рищук С.В. Заболевания репродуктивной системы у детей и подростков (андрологические аспекты): руководство для врачей. СПб.: СпецЛит, 2012. 479 с.
9. Молочков В.А. Урогенитальный хламидиоз. М.: «Издательство БИНОМ», 2006. 208 с.

10. Орлова О.Е., Бескина С.Р., Житова Е.А. и др. Моделирование персистентной хламидийной инфекции в культуре клеток. В кн.: Хламидии (гальпровии) и хламидиозы. / Под ред. А.А. Шаткина. М., 1982: 17-19.
11. Пашко Ю.П. Гематогенный путь распространения *C. trachomatis* у пациентов с урогенитальным хламидиозом: Дисс. ... канд. мед. наук. Москва, 2010. 102 с.
12. Прозоровский С.В., Раковская И.В., Вульфович Ю.В. Медицинская микоплазмология. М.: Медицина, 1995. 288 с.
13. Раковская И.В., Вульфович Ю.В. Микоплазменные инфекции урогенитального тракта. М.: Ассоциация САНАМ, 1995. 68 с.
14. Ришук С.В. Аберрантные формы хламидий как общебиологическая стратегия выживания вида. Особенности диагностики и лечения. TERRA MEDICA. 2013. №2: 9-21.
15. Ришук С.В. Клинико-лабораторные аспекты хронических воспалительных заболеваний и дисбиозов у половых партнёров: Дисс. ... доктора мед. наук. Санкт-Петербург, 2006. 400 с.
16. Ришук С.В., Дробченко С.Н. Лабораторные маркёры урогенитальной хламидийной инфекции при различных вариантах клинических проявлений у женщин и мужчин. Матер. Регион. научно-практич. конф. с междунар. участием «Инновационные технологии в диагностике и лечении кожных заболеваний и инфекций урогенитального тракта». Гродно: ГрГМУ, 2012: 107-114.
17. Ришук С.В., Дробченко С.Н. Сопоставление лабораторных показателей, клинических проявлений и осложнений хламидийной инфекции. Матер. 5-й Междисципл. научно-практич. конф. с междунар. участием «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клинико- лабораторная диагностика и терапия». TERRA MEDICA NOVA (Приложение). 2012. №1: 77-80.
18. Ришук С.В., Костючек Д.Ф. Половые пары и половые инфекции. СПб.: Медицинская пресса, 2005. 272 с.
19. Ришук С.В., Мирский В.Е. Диагностические подходы при урогенитальной микоплазменной инфекции. TERRA MEDICA. 2013. №1: 4-12
20. Ришук С.В., Смирнова Т.С., Костючек Д.Ф. и др. Диагностика и установление излеченности половых пар по урогенитальному хламидиозу и микоплазмозу: Методические рекомендации для врачей по Северо-Западному региону России. СПб.: Медицинская пресса, 2006. 20 с.
21. Ришук С.В., Татарова Н.А., Мирский В.Е. Обоснование необходимости введения врачей- репродуктологов в систему практического здравоохранения России и других стран СНГ. Матер. Межгосударств. форума государств – участников СНГ «Здоровье населения – основа процветания стран содружества». Москва, 2012: 119-122.
22. Ришук С.В., Мирский В.Е., Афонина И.Е. Проблемы диагностики урогенитальной микоплазменной инфекции // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2013. №1 (<http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-1>).
23. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Иммунология: атлас. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 624 с.
24. Arena B., Casares M., Valentine B.H. et al. Evaluation of laparoscopy and endocervical swab in the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection of the female genital tract. Arch. Gynecol. Obstet. 1993. V. 253 (1): 5-7.
25. Askienazy-Elbar M. Immune consequences of Chlamydia infections in pregnancy and in vitro fertilization outcome. Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 1996. № 4: 143-148.
26. Baud D., Goy G., Jatou K., Osterheld M.-C., Blumer S., Borel N., et al. Role of *Chlamydia trachomatis* in Miscarriage. Emerg Infect Dis. 2011. 17(9): 1630–1635.
27. Beatty W.L., Morrison R.P., Byrne G.I. Immunoelectron-microscopic quantitation of differential levels of chlamydial proteins in a cell culture model of persistent *Chlamydia trachomatis* infection. Infect. Immun. 1994. V. 62 (9): 4059-4062.
28. Bustin S.A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymer-

- ase chain reaction assays. J. Molecular Endocrinology. 2000. V. 25: 169-193.
29. Chemesky M., Luinstra K., Sellors J., et al. Serological studies on women with pelvic pain, with or without chlamydial plasmid DNA in endometrial biopsy tissue. Int. Congr. STD 12 th Meet ISSTD & 14 th Reg Meet IUSTI: Abstr. N.-Y., 1997: 104.
  30. Citti C., Rosengarten R. Mycoplasma genetic variation and its implication for pathogenesis. Wien. Klin. Wochenschr. 1997. V. 109 (14-15): 562-568.
  31. Dieterle S., Mesroglu M., Triebler B. et al. Gibt es einen Zusammenhang zwischen Tubenverschlüssen bei chronischer Salpingitis und urogenitalen Chlamydieninfektionen? [Is there a correlation between tubal occlusions in chronic salpingitis and urogenital chlamydia infections?]. Geburtshilfe Frauenheilkd. 1994. V.54 (8): 455-459.
  32. Gaston J. S. H. Immunological basis of chlamydia induced reactive arthritis. Sex. Transm. Inf. 2000. V.76: 156-161.
  33. 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. V. 19(5): 1121-6.
  34. Josephson K.L., Gerba C.P., Pepper I.L. Polymerase chain reaction detection of nonviable bacterial pathogens. Appl. Environ. Microbiol. 1993. V. 59: 3513-3515.
  35. Joyee A.G., Thyagarajan S.P., Vikram Reddy E. et al. Diagnostic utility of serologic markers for genital chlamydial infection in STD patients in Chennai, India. J Assoc Physicians India. 2007. 55: 777-780.
  36. Joyner J.L., Douglas J.M., Judson F.N. Persistence of Chlamydia trachomatis infection detected by polymerase chain reaction in untreated patients. 13th Meeting of ISSTD: Abstract Guide. Denver, 1999: 36.
  37. Koehler L., Nettelbreker E., Hudson A.P. et al. Ultrastructural and molecular analyses of the persistence of Chlamydia trachomatis (serovar K) in human monocytes. Microb. Pathog. 1997. V.22: 133-142.
  38. Levy R., Layani-Milon M.P., Giscard D'Estaing S. et al. Screening for Chlamydia trachomatis and Ureaplasma urealyticum infection in semen from asymptomatic male partners of infertile couples prior to in vitro fertilization. Int. J. Androl. 1999. V. 22 (2): 113-118.
  39. Lucisano A., Morandotti G., Marana R. et al. Chlamydial genital infections and laparoscopic findings in infertile women. Eur. J. Epidemiol. 1992. V.8 (5): 645-649.
  40. Mardh P.A. Increased serum levels of IgM in acute salpingitis related to the occurrence of Mycoplasma hominis. Acta Pathol. Microbiol. Scand [B] Microbiol. Immunol. 1970. V. 78 (6): 726-732.
  41. Meijer C.J. Chlamydia trachomatis and ectopic pregnancy: retrospective analysis of salpingectomy specimens, endometrial biopsies, and cervical smears. J. Clin. Pathol. 1995. V.48 (9): 815-819.
  42. Moulder J.W., Levy N.J., Zeichner S.L. et al. Attachment defect in mouse fibroblasts (L cells) persistently infected with Chlamydia psittaci. Infect. Immun. 1981. V.34 (1): 285-291.
  43. Ohlemeyer C.L., Hornberger L.L., Lynch D.A., et al. Diagnosis of Trichomonas vaginalis in adolescent females: InPouch TV culture versus wet-mount microscopy. J Adolesc Health 1998. 22: 205-208.
  44. Patton D.L., Kuo C.C., Wang S.P. et al. Chlamydial infection of subcutaneous fimbrial transplants in cynomolgus and rhesus monkeys. J. Infect. Dis. 1987. V.155: 229-35.
  45. Storm M., Gustafsson I., Herrmann B. et al. Real-time PCR for pharmacodynamic studies of Chlamydia trachomatis. J. Microbiol. Methods. 2005. V.61 (3): 361-367.

Поступила 19 октября 2013 г.

(Контактная информация: **Рищук Сергей Владимирович** – д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России. Адрес: 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41; сайт: [s.rishchuk@mail.ru](mailto:s.rishchuk@mail.ru); <http://рищук.пф>; <http://rishchuk.ru>).