

Е.Г. БОЧКАРЕВ  
Институт аллергологии  
и клинической иммунологии,  
Москва

616.9-07:618.1

## ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

Представлены современные данные по микроскопии, иммунофлюоресценции, иммуноферментному методу, полимеразной цепной реакции (ПЦР) и культуральному методу, применяющимся в диагностике инфицирования *Chlamydia trachomatis*. Методы генодиагностики (ПЦР) являются более эффективными по сравнению с традиционными (изоляция хламидии трахоматис в культуре, иммунофлюоресценция, микроскопия, иммуноферментные методы). Недостатком ПЦР могут являться ложноположительные результаты вследствие контаминации ДНК. К ложноотрицательным результатам могут приводить наличие ингибиторов ПЦР в клинических образцах.

Для достоверной диагностики хламидиоза необходим комплекс лабораторных методов, позволяющих выявить возбудителя и стадию заболевания.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** хламидийная инфекция, диагностика.

*Имунопатология, аллергол., инфектол. 2000, 4: 65 стр.*

## LABORATORY DIAGNOSTICS OF CHLAMYDIAL INFECTION

*E.G. Bochkaryev*

*Allergology and Clinical Immunology Institute, Moscow, Russia*

Modern data on microscopy, immunofluorescence test, enzyme immunoassay, polymerase chain reaction (PCR) and culture for the diagnostics of *Chlamydia trachomatis* infections are presented here. Genodiagnosics tests (PCR) are more effective than traditional tests (*C. trachomatis* isolating in culture, immunofluorescence test, microscopy, enzyme immunoassay).

The drawback of PCR which may lead to false positive results is the possibility of DNA contamination. The false-negative results also possible because of presence PCR inhibitors in samples.

The reliable diagnostics of chlamydiosis is needed for the whole set of laboratory tests, allowing to determine the ethitropic agent and the stage of diseases.

**KEY WORDS:** *Chlamydial infection, diagnostics.*

*Immunopathol., allergol., infectol. 2000, 4: 65 p.*

Многочисленные клинико-эпидемиологические исследования свидетельствуют о широком распространении хламидий как возбудителя, передающегося преимущественно половым путем. *Chlamydia trachomatis* является грамотрицательным паразитирующим микроорганизмом, инфицирующим эпителий слизистых поверхностей урогенитального трак-

та, носоглотки и конъюнктивы глаз и вызывающим их воспалительные заболевания. Эти заболевания имеют тенденцию к хронизации с развитием многочисленных осложнений [2,3,11].

Принято считать, что в 50-80% случаев нарушения репродуктивной сферы у женщин вызваны смешанными инфекциями, среди которых, кроме хла-

мидий, наиболее часто встречаются микоплазмы и уреоплазмы [5,6,7,9].

Длительное бессимптомное течение и множественные неспецифические клинические проявления затрудняют симптоматическую диагностику хламидиоза, в связи с чем основное значение приобретают лабораторные методы исследования [1,13].

Проблема диагностики хламидийной инфекции становится актуальной задачей в связи с изданием Министерством здравоохранения РФ 7 декабря 1993 г. Приказа № 286 “О совершенствовании контроля за заболеваниями, передающимися половым путем (ЗППП)” и 21 февраля 2000 г. Приказа № 64 “Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований”. Значительное место в Приказе № 286 отведено проблеме хламидийной инфекции, которая, наряду с сифилисом и гонореей, стала приоритетной при проведении комплекса противоэпидемических, организационных и лечебных мероприятий.

**Целью настоящей работы** является описание наиболее адекватных методов лабораторной диагностики хламидиоза, включенных согласно Приказу № 64 в номенклатуру клинических лабораторных исследований, определение показаний к их применению, интерпретации полученных результатов с клинической точки зрения.

### **Техника взятия материала**

Одним из самых ответственных этапов диагностики хламидиоза является забор материала. Именно этот этап должен проводиться в лечебных учреждениях широкого профиля, в то время как дальнейшая обработка материала должна осуществляться в специализированных лабораториях. При исследовании на хламидии методом заражения культуры клеток перед взятием материала больные не должны принимать в течение месяца антибиотики тетрациклинового ряда; при цитологической методике, в том числе и при использовании моноклональных флюоресцирующих антител, антибиотики не следует применять за две недели до исследования. Перед взятием материала из уретры больные не должны мочиться в течение 1-1,5 часа.

При взятии материала на хламидии следует помнить, что оптимальным для присутствия и размножения хламидий являются определенные участки цилиндрического эпителия мочеполовых путей (передняя уретра на глубине 2,5-4 см у мужчин, слизистая оболочка цервикального канала матки на

глубине 1,5 см у женщин). При взятии материала из шейки матки ключевым моментом является удаление слизистой пробки. От тщательности проведения этой подготовительной процедуры во многом зависит правильность соскоба клеток цервикального канала. Слизистую пробку удаляют ватным тампоном и пинцетом, а затем берут материал специальной щеточкой cervex brush или voba-brush, имеющей ряд преимуществ, так как для получения репрезентативного результата важно присутствие в образце клеток со всей поверхности цервикального канала, зоны трансформации [8].

Достаточно информативным является исследование у мужчин осадка первой порции утренней мочи методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Забор материала у девочек производится со слизистой оболочки преддверия влагалища, в отдельных случаях - из заднего свода влагалища через гименальные кольца. Объектом исследования на наличие хламидий могут быть смывы со слизистой оболочки глаз, носоглотки, мокрота, бронхоальвеолярный смыв.

### **Лабораторные методы диагностики хламидийной инфекции**

**Цитоскопические методы обнаружения хламидии.** При цитоскопическом методе одновременно с поиском цитоплазматических клеток-включений Гальбершедтера-Провачека учитывается количество лейкоцитов как показателя воспаления, а также дополнительная информация о наличии сопутствующей бактериальной микрофлоры, дрожжеподобных грибов, трихомонад и т.п.

#### **1. Острая фаза заболевания.**

Материалом для исследования служат соскобы из уретры у мужчин и уретры и /или цервикального канала у женщин. Материал берут специальными щеточками или ложечками Фолькмана. Выделения из цервикального канала удаляются ватным тампоном. Щеточка вводится в канал на 1-2 см, вращается 15 секунд. Соскобный материал распределяется на предметном стекле, высушивается на воздухе и фиксируется в метаноле или холодном ацетоне. Наиболее популярна окраска по Романовскому-Гимзе. После окраски препараты просматриваются в световом микроскопе, используя иммерсионный объектив (x90). При этом цитоплазма клеток окрашивается в голубой цвет, ядра – в фиолетово-синий, цитоплазматические включения определяют-

ся в виде темно-синих или розовых микроколоний на фоне голубой цитоплазмы. На стадии элементарных включения хламидий окрашиваются в розовый цвет, на стадии элементарных телец – в синий.

Цитоскопический метод широко доступен, но эффективен лишь при острых формах инфекции, значительно менее эффективен и информативен при хронических формах заболевания. При урогенитальном хламидиозе частота обнаружения телец Провачека в соскобах уретры и цервикального канала не превышает 10-12 %. Наличие этих телец подтверждает диагноз хламидиоза, однако их отсутствие не исключает наличие инфекции [5].

**Иммуноморфологические методы.** Эти методы основаны на обнаружении антигенных субстанций хламидий в эпителии и других тканях путем обработки препаратов антителами. Антитела диагностической антихламидийной сыворотки соединены с какой-либо меткой - люминесцирующей (ФИТЦ-антитела) или ферментной (энзим-меченые антитела) [10].

**Прямая иммунофлюоресценция (ПИФ).** Этот метод предусматривает прямое выявление антигенов хламидий. При люминесцентной микроскопии хламидийные включения определяются в виде образований в клетке эпителия с зеленой или желто-зеленой флюоресценцией на коричнево-оранжевом фоне цитоплазмы клеток. Включения могут иметь зернистую, гомогенную или смешанную структуру.

Показаниями для диагностики хламидийной инфекции этим методом являются:

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

Диагностическая информативность ПИФ связана с тем, что с ее помощью выявляются не только корпускулярные, но и растворимые антигены хламидий. Этот метод не зависит от возможного изменения тинкториальных свойств микроорганизма в процессе заболевания и лечения. ПИФ-метод является важнейшим скрининговым методом диагностики урогенитального хламидиоза. Его чувствительность и специфичность при использовании моноклональных антител составляет 65-90% и 85-90% соответственно. При оценке результатов следует учитывать, что только показатели флюоресценции внутри-

клеточных включений могут оцениваться в качестве положительного результата этого теста при использовании поликлональных антихламидийных антител. При использовании моноклональных - результат считают положительным при наличии 10 элементарных телец (ЭТ) в поле зрения или хотя бы одного внутриклеточного включения. Соскобные препараты готовят также, как и для цитоскопических исследований .

Моноклональные антитела отличаются друг от друга по яркости флюоресценции, постоянству выявляемых форм ЭТ и степени специфичности. Для диагностики хламидий этим методом необходим люминесцентный микроскоп.

В целом, метод ПИФ отвечает критериям высокой чувствительности и специфичности, но требует исполнения опытным, компетентным лабораторным работником.

Высококвалифицированная экспертная оценка методом ПИФ редко бывает доступной, поэтому средняя чувствительность его недостаточно высока. Метод недостаточно чувствителен для определения малых количеств ЭТ, то есть может дать ложноотрицательные результаты [5,12].

**Непрямой метод иммунофлюоресценции.** Непрямой метод иммунофлюоресценции применяют в тех случаях, когда нет в наличии ФИТЦ-конъюгата антихламидийных антител. В этих случаях приготовленный тем же методом, что и для ПИФ препарат из клинических проб обрабатывают вначале антихламидийными антителами, полученными путем иммунизации хламидиями овец, кроликов, мышей или других животных, а затем второй сывороткой, специфичной для вида животного, которое было иммунизировано хламидиями. Антитела второй сыворотки конъюгированы с ФИТЦ. Показания к применению и специфичность данного метода совпадают с ПИФ.

**Методы иммуноферментного анализа.** Эти методы основаны на обнаружении растворимого антигена хламидий в исследуемых пробах.

Чаще всего в клинической практике применяют наборы реагентов, основанные на методе твердофазного ИФА-анализа для определения антигенов хламидий. Твердая фаза покрыта хламидийными моноклональными антителами установленной специфичности. Амплификация достигается с использованием технологии полимерной конъюгации, в результате чего происходит фиксация, при которой на каждый связанный участок антигена приходится по-

лимерный комплекс с высокомолекулярным фрагментом. Кроме того, амплификация выполняется на стадии обозначенного воспроизведения с использованием запатентованной технологии фермент-амплификации. Визуально положительные пробы окрашиваются в желто-оранжевый цвет. Интенсивность окраски пропорциональна количеству антигена хламидии. Точный результат исследования определяют с помощью микроЭВМ, спектрофотометра “Мультискан” или другого аппарата для ИФА при длине волны 492 нм. Образцы, дающие значения поглощения выше или равные значению отсекающего поглощения (cut-off), считаются положительными для хламидии. Чувствительность и специфичность ИФА методов соответственно составляет 65-70% и 90-100%. Показания к применению такие же, как и для метода прямой иммунофлюоресценции.

Выявление в сыворотке крови антител к липополисахаридному антигену хламидий классов Ig G, Ig A, Ig M с определением их титра позволяет определить стадию заболевания, обосновать необходимость антибактериального лечения и оценить его эффективность.

#### Показания к выявлению антихламидийных антител классов Ig G, Ig A, Ig M в сыворотке крови методом ИФА.

1. Определение стадии заболевания:
  - острая, первичная;
  - хроническая;
  - реактивация или реинфекция;
  - состояние после реконвалесценции (остаточная серология).
2. Оценка эффективности проводимого лечения (наряду с исследованием культуральным методом и ПЦР).
3. Установление хламидийной этиологии экстрагенитальных поражений (артриты, пневмонии, заболевания глаз).

В промежутке между пятым и двадцатым днями после появления клинических симптомов заболевания последовательно возникают антитела этих трех классов к специфическому хламидийному липополисахариду. Ig M является маркером острой стадии, они определяются уже через пять дней после начала заболевания. В течение 10 дней после появления симптомов заболевания происходит смена IgM на IgA. В течение короткого периода могут одновременно присутствовать Ig M и Ig A. В это же время, или с небольшой задержкой в 2-3 недели, могут быть определены и IgG. Прогрессирование заболевания, переход в хроническую стадию характеризуется появлением Ig A, Ig G- антител (таблица 1).

**Выделение хламидий в культуре клеток McCoy.** Одним из лучших, но в то же время наиболее трудоемким, является метод диагностики хламидий путем выделения возбудителя в культуре клеток, обработанных различными антимабоксидантами (“золотой стандарт”). Для этой цели обычно используют чувствительную культуру клеток, обработанную циклогексимидом. Чувствительность культурального метода по сравнению с ПЦР составляет 70-80%, но в то же время он превосходит молекулярно-биологические методы диагностики по специфичности. В литературе описаны случаи выявления хламидии трахоматис методом ПЦР при отрицательных результатах культурального теста и наоборот [1,4].

Показаниями для диагностики хламидийной инфекции этим методом являются:

1. Беременность с отягощенным акушерским анамнезом.
2. Оценка эффективности проведенного антибактериального лечения.
3. Выявление чувствительности и резистентности к антибактериальным препаратам.
4. Выявление хламидий у ВИЧ-инфицированных или лиц со вторичными иммунодефицитными состояниями.

Таблица 1

#### Определение стадии заболевания на основании выявления антител классов Ig G, Ig A, Ig M

Стадия заболевания	Классы антител
Острая	Ig G, Ig A, Ig M.
Хроническая	Ig A*, Ig G
Реактивация или реинфекция	Ig A*, Ig M
Состояние после реконвалесценции	Ig G

\* – при недостоверном определении титра Ig A подтверждение осуществляется при помощи определения Ig M.

стояниями (онкологические больные после проведенных курсов лучевой и химиотерапии, трансплантации костного мозга; лица, получающие иммунодепрессанты; больные вирусным гепатитом и туберкулезом).

5. Бесплодие неясного генеза.

6. Установление этиологии хронического инфекционного процесса урогенитального тракта.

Культуральный метод является референс-методом при оценке эффективности антибактериального лечения. При исследовании биопроб методом ПЦР после курса химиотерапии в некоторых случаях можно получить “ложноположительные с клинической точки зрения” результаты. Это связано с тем, что невозможно однозначно оценить жизнеспособность и патогенность микробной клетки на основании выявления фрагмента ее генома, используя только данные молекулярно-биологических методов. В этом случае при исследовании клинического материала с помощью культурального посева микробные клетки, потерявшие эти важные с клинической точки зрения свойства, не дадут роста в клеточной культуре.

Для транспортировки и хранения клинического материала используют специальную питательную среду (транспортная среда). Клинический материал после перенесения в транспортную среду хранится в общей камере холодильника при температуре +4° С и, в течение двух суток должен быть доставлен в лабораторию.

#### Процедура заражения клеток

1. Добавление к клеткам ростовой среды, содержащей циклогексимид.

2. Заражение обработанных клеток материалом, полученным от больных.

3. Центрифугирование зараженных клеток при 2500 g в течение 45 минут.

4. Отмывка клеток питательной средой.

5. Инкубирование клеток в течение двух суток при +36 ° С.

6. Обнаружение хламидий в клетках методом прямой иммунофлюоресценции или ПЦР.

Реальный срок получения результатов этим методом - семь дней.

В настоящее время в литературе растет число сообщений о случаях резистентности хламидий к антибактериальным препаратам (эритромицину, тетрациклину, доксициклину, фторхинолонам). Ценность культурального метода состоит в том, что он является пока единственным методом, позволяющим

выбрать антибактериальный препарат для лечения хламидийной инфекции и оценить эффективность антибактериальной терапии.

Схема метода выявления устойчивости хламидии трахоматис к антибактериальным препаратам:

– хламидийным изолятом, выделенным от больного при посеве, заражают чувствительные клетки;

– к зараженным клеткам добавляют ростовую среду, содержащую антибиотик в различных дозах;

– зараженные клетки инкубируют 5 дней при температуре + 36 ° С;

– чувствительность хламидий к антибиотику определяется по подавлению инфекции в зараженных клетках, то есть по снижению числа клеток с внутриклеточными включениями. Процедура длительная, занимает по времени две недели.

**Диагностика *Chlamydia trachomatis* методом полимеразной цепной реакции.** Дороговизна, длительность и трудоемкость микробиологического выделения хламидий в культуре существенно затрудняет использование этой процедуры в рутинной лабораторной диагностике. В литературе накоплен обширный клинико-лабораторный опыт по использованию метода ПЦР для выявления хламидии трахоматис. Особое внимание при его использовании следует уделять, без сомнения, вопросам правильной интерпретации получаемых результатов. Экстремально высокие показатели чувствительности и специфичности ПЦР делают эту методику во многом революционной в лабораторной диагностике. Основными мишенями при выявлении хламидии трахоматис являются нуклеотидная последовательность видоспецифической криптолической плазмиды, последовательность генома главного белка внутренней мембраны, рибосомальные гены [1,4,13].

Данная реакция представляет собой многократно повторяющиеся циклы синтеза (амплификацию) специфической области ДНК-мишени в присутствии термостабильной ДНК-полимеразы, дезокси- нуклеотидтрифосфатов, соответствующего солевого буфера и олигонуклеотидных затравок-праймеров, определяющих границы амплифицируемого участка. Каждый цикл состоит из трех стадий с различными температурными режимами. На первой стадии при 94 ° С происходит разделение цепей ДНК, затем при 56-58 ° С- присоединение (отжиг) праймеров к комплементарным последовательностям на ДНК-мишени, и при температуре 72 ° С протекает синтез новых цепей ДНК путем достраивания цепей праймеров в направлении 5' -3'. В каждом цикле про-



исходит удвоение числа копий амплифицируемого участка, что позволяет за 25-40 циклов наработать фрагмент ДНК, ограниченный парой выбранных праймеров, в количестве, достаточном для ее детекции с помощью электрофореза или альтернативными ему технологиями.

По сравнению с широко применяющимися иммунологическими тестами ПЦР-диагностика обладает рядом преимуществ:

- высокой и регулируемой специфичностью, обусловленной лишь нуклеотидной последовательностью, применяемой в данной диагностической системе;

- высокой чувствительностью, позволяющей диагностировать не только острые, но и латентные инфекции (возможно выявление даже единичных бактерий или вирусов);

- химическим сходством всех нуклеиновых кислот позволяющим разрабатывать универсальные процедуры для выявления различных инфекционных агентов;

- возможностью идентификации возбудителя в течение 4,5-5 часов.

Доставка биоматериала в ПЦР-лабораторию производится в холодном термоконтейнере или термосе со льдом. Важной отличительной особенностью ПЦР-диагностики является относительно низкая стоимость оборудования для проведения анализа, сочетающаяся с универсальностью метода, что позволяет выявлять весь спектр клинически актуальных инфекционных агентов.

1. Острая фаза заболевания.

2. Хроническая фаза заболевания.  
3. Установление этиологии хронического инфекционного процесса урогенитального тракта.

4. Беременность с отягощенным акушерским анамнезом.

5. Бесплодие неясного генеза.

6. Контроль эффективности проведенного антибактериального лечения. В случае выявления фрагмента ДНК хламидии трахоматис после курса химиотерапии следует провести культуральную диагностику для исключения “ложноположительного с клинической точки зрения результата”. Если проведение культуральной диагностики невозможно, то необходимо через 5-6 недель (полное обновление эпителиального покрова мочеполовых путей) провести повторное исследование методом ПЦР.

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

Ниже приведены данные по выявлению хламидии трахоматис различными методами исследования. Использованы выборки из исследований, в которых хотя бы одним из методов они были бы обнаружены. Видно преимущество ПЦР как при исследовании первичных материалов (таблица 2), так и при детекции ДНК хламидий в клеточной культуре, зараженной клиническим материалом (таблица 3). В таблице 4 приведены данные о недостатках и достоинствах этих методов [7].

Таблица 2

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

Методы детекции	Выявление хламидий (в %) в одних и тех же пробах
ПИФ	68,9
ПЦР	94,8
ИФА	25,62

Таблица 3

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

Методы детекции	Выявление хламидий (в %) в одних и тех же пробах
ПИФ	94
ПЦР	96,2

Таблица 4

Достоинства и недостатки различных методов обнаружения *Chlamydia trachomatis*

Хар-ка метода	ПИФ	Культ. посев	ИФА-методы	ПЦР
Исследуемый материал	Любой	Большинство	Ограничения из-за неспецифичности реакций	Любой
Значение правильно взятых проб	Решающее	Решающее	Решающее	Решающее
Условия транспортировки проб	Если препарат фиксирован- условия не важны	Быстрая доставка или хранение при низкой температуре	Не имеет значения, если проба взята в буфер	Менее важны, чем для культуры клеток
Условия хранения	На короткое время при +4 °, длительно при -20 ° С	+4 ° С - сутки-двое. длительное хранение в жидком азоте	3 -5 дней при +4°С. Замораживание снижает чувствительность	На короткое время +4°С, две недели-20°С, длительное время – в жидком азоте
Проверка адекватности взятия материала	Мазки оценивают во время тестирования	Не практикуется	Не практикуется	Определяется, присутствует ли ДНК
Потребность в специальном оборудовании	Люминесцентный микроскоп	Центрифуга	Комплект для ИФА	Амплификатор и оборудование для электрофореза
Обработка проб	Простая	Трудоемкая	Становится проще для новых тестов	Требует строгой предосторожности, чтобы не контаминировать ДНК
Чтение результатов	Субъективное и утомительное	Субъективное, умеренно утомительное	Объективное, простое	Объективное, простое
Время выполнения	30 минут	12-72 часа	3 часа	4,5-5 часов
Способы проверки результатов	Повторный просмотр	Повторный просмотр	Повторение теста	Повторная проба или пере-варивание эндонуклеазой
Зависимость результатов от	Опыт микроскописта	Чувствительности клеточной культуры	Присущей мощности теста	Хорошего контроля и отсутствия контаминации
Способность к поддержанию штамма	Нет	Да	Нет	Нет
Использование как контроля эффективности лечения	Ограничено	Рекомендуется	Ограничено	Рекомендуется с ограничениями

**Изменения иммунного статуса при хламидийной инфекции.** Изменения иммунной системы при острых поражениях нижнего отдела урогенитального тракта (уретрит, цервицит), как правило, неотчетливы. При хронизации и распространении процесса (спальпингит, простатит, артриты) они приобретают стойкий характер.

У больных хламидийной инфекцией отмечается снижение уровня нейтрофилов и повышение содержания эозинофилов. При исследовании клеточного звена иммунитета непрямым иммунофлюоресцентным методом с помощью моноклональных антител, определении концентрации Ig G, A, M методом радиальной иммунодиффузии могут выявляться следующие нарушения: в гуморальном звене - снижение Ig G и IgA при снижении относительного содержания клеток CD 72 (B-лимфоцитов). Дисбаланс клеточного звена иммунитета выражается в достоверном снижении клеток CD4 (относительное содержание), тенденции к повышению CD8, очевидно, за счет роста цитотоксических клеток и, как следствие, снижение иммунорегуляторного индекса. Факторы неспецифического иммунитета характеризуются значительным повышением относительного содержания популяции естественных киллеров, а также недостаточной функциональной активностью опсоно-фагоцитарной системы [13].

### Заключение

Клиническая картина хламидийного инфекционного процесса характеризуется скрытым течением и малосимптомностью. Хламидиоз имеет тенденцию к хронизации и характеризуется появлением таких осложнений, как бесплодие, невынашивание беременности, экстрагенитальные поражения. Хламидии часто встречаются в ассоциации с другими возбудителями мочеполовых инфекций, такими, как, микоплаз-

мы, уреоплазмы, гонококки, трихомонады. В диагностике хламидийного инфекционного процесса первостепенное значение имеют лабораторные методы, позволяющие установить этиологический диагноз.

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

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

В настоящее время не существует лабораторного метода, позволяющего избежать как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. При диагностике хламидиоза необходима комплексная лабораторная диагностика (ПИФ, ИФА, культуральный метод, ПЦР, выявление титров антител к антигенам возбудителя), позволяющая выявить возбудителя, определить стадию заболевания, обосновать необходимость назначения антибактериальных препаратов. Изучение иммунного статуса и обоснованное применение иммуномодуляторов позволит повысить эффективность лечения в отдаленные после заражения сроки.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Башмакова М.А., Бочкарев Е.Г., Говорун В.М., Савичева А.М., Парфенова Т.М. // Хламидиоз. Современные подходы к диагностике и лечению.- М., 1999.-61 с.
2. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. // Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. -М.: ИИД "Филинь".-1997.-536 с.
3. Поздеев О.К., Покровский В.И. Внутриклеточные паразиты: бактерии семейства *Chlamydiae*, *Rickettsiaceae* и *Bartonellaceae*// Медицинская микробиология.- М.,: Гэотар Медицина. - 1999.- с.529-551.
4. Савичева А.М., Башмакова М.А., Шипицина Е.В., Шалепо К.В., Мартикайнен З.М., Зацюрская С.Л., Рыбина Е.В., Новикова Л.Н., Тараскина А.Е. Клиническая оценка генитальных инфекций // Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний. Материалы 3-ой Всероссийской научно-практической конференции.- М.- 2000.- с.79-82 .



5. Савичева А.М. Урогенитальный хламидиоз и репродуктивное здоровье женщин.// Тез. докл. VII Рес. Съезда дерматологов-венерологов. Казань.- 1996.-ч.3.-с.121.
6. Савичева А.М. Хламидиоз-болезнь молодых. // Материнство.-1996.-№2.-с.14-16.
7. Савичева А.М., Башмакова М.А. Урогенитальный хламидиоз у женщин и его последствия. Под ред. Айламазяна Э.К. – Н.Новгород: Издательство НГМА.- 1998.- 182 с.: ил.
8. Серов В.Н., Краснопольский В.И., Делекторский В.В. и др. Хламидиоз. Клиника, диагностика, лечение. Методические рекомендации.- М.- 1997 г.-23 с.
9. Alaniz Sanchez A. Chl. trachomatis and displasia cervical.// Ginecol. Obsterrics.-1995.-Sep.-vol.63.-p.377-381.
10. Dwyer R.St.C. Chlamydial infection. Results of micro-immunofluorescence tests for the detection of type-specific antibody in certain chlamydial infections // Brit. J. Vener. Dis. - 1972. - Vol. 48. - P. 452-459.
11. Everett K.D.E. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one mono-typic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms // Inter. J. Syst. Bacterial.-1999. - Vol. 49. - P. 415-440.
12. Ridgway G.L. // FEMS workshop human chlamydial infections.-Program de Bildiri ozelteri.-Izmir.-1997.-p.38-44.
13. Stephens R.S. Chlamydia. Intracellular Biology, Pathogenesis, and Immunity. -// Washington: ASM Press, 1999. - P. 143-146.

О.В.КАЛЮЖИН, Е.Л.МУЛИК,  
В.В.СЕРГЕЕВ, Н.Г.КАЛИНА,  
С.И.ЕЛКИНА,  
М.И.КАЛЮЖИНА,  
Ф.Н.КУЗОВЛЕВ,  
А.В.КАРАУЛОВ  
НИИ Вакцин и сывороток  
им. И.М.Мечникова РАМН,  
Москва, Россия;  
Московская медицинская  
академия им. И.М.Сеченова,  
Москва, Россия;  
Международный Фонд  
"Поколение".

УДК 579:616.9:615.03

## ПРИМЕНЕНИЕ $\beta$ -ГЕПТИЛГЛИКОЗИД- МУРАМИЛДИПЕПТИДА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Продемонстрирована высокая эффективность  $\beta$ -гептилгликозид-МДП как средства моно- и комбинированной иммунотерапии генерализованных инфекционных заболеваний, вызванных внутрибрюшинным введением культур *K. pneumoniae* и *S. aureus*.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**  $\beta$ -гептилгликозид-мурамилдипептид, антибиотики, генерализованная инфекция.

*Имунопатология, аллергол., инфектол. 2000, 4: 73 стр.*

## USING OF $\beta$ -HEPTYL-GLUCOSIDE-MURAMYL DIPEPTIDE IN EXPERIMENTAL THERAPY OF GENERALIZED BACTERIAL INFECTIONS

O.V.KALUZHIN, E.L.MULIK, V.V.SERGEYEV, N.G.KALINA, S.I.ELKINA,  
M.I.KALUZHINA, F.N.KUZOVLEV, A.V.KARAULOV  
Mechnikov's Institute of Vaccines and Sera RAMS, Moscow, Russia;  
Sechenov's Medical Academy, Moscow, Russia;  
International Fund "Generation".