

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

**АБЕРРАНТНЫЕ ФОРМЫ ХЛАМИДИЙ
КАК ОБЩЕБИОЛОГИЧЕСКАЯ
СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ ВИДА.
ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И
ЛЕЧЕНИЯ.**

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

«Способность микроорганизмов к приспособлению, адаптации к меняющимся условиям существования общеизвестна.

Именно высокая пластичность микробной клетки в отношении различных стрессовых воздействий среды обитания позволила им выработать в процессе эволюции, с одной стороны, различные механизмы выживания в конкретном специфическом биотопе, а с другой – механизмы, имеющие выраженный общий универсальный характер»

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

Покоящееся состояние бактерий (микроорганизмов)

**обуславливает не только их способность к
длительному переживанию в неблагоприятных
для размножения условиях, но и реализацию
того физиологического и морфологического
клеточного типа, который наиболее адаптивен к
новым условиям роста и проявляется при
прорастании покоящихся клеток вследствие
внутригеномных перестроек.**

Покой – это один из способов адаптации микроорганизмов (и других живых существ) к изменяющимся условиям среды.

Покой – это обратимое состояние низкой метаболической активности, в котором клетки могут существовать длительное время без деления [Stevenson, 1978].

Покоящиеся клетки характеризуются особым физиологическим состоянием – покоем, которое обуславливает их способность переживать недостаток или полное отсутствие питательных веществ и энергии, а также оставаться устойчивыми к повреждающим факторам среды.

Переход в **покоящееся состояние** происходит при создании неблагоприятных для роста условий и сопровождается рядом физиологических и биохимических изменений, приводящих к остановке роста и пролиферации и резкому снижению или полному прекращению метаболической активности клетки (организма), оставаясь при этом полностью жизнеспособными – при создании оптимальных условий сохраняют способность вернуться к активному обмену и размножению.

Разновидности покоя

Репродуктивный (пролиферативный) покой

– отсутствие деления у стационарных - активно метаболизирующих и делящихся клеток бактерий (микроорганизмов)

Метаболический покой – снижение или отсутствие метаболизма у репродуктивно покоящихся форм

Свойственный покоящимся формам
тип метаболизма, при котором
редуцирован обмен веществ клеток с
внешней средой и повышена их
устойчивость к факторам окружения,
предложено называть **гипобиозом**

[Sussman, Halvorson, 1966].

Различные уровни покоя при гипобиозе

□ **Гипометаболизм (гибернация, диапауза, оцепенение – *quiescens*)** характеризуется низкими, но измеряемыми метаболическими активностями.

У микроорганизмов это состояние характеризует клетки культур стационарной фазы, а также уровень метаболизма жизнеспособных некультивируемых клеток или ультрамикробактерий.

□ **Аметаболизм (синонимы: анабиоз, криптобиоз, абиоз)** – крайнее проявление гипометаболизма, рассматривается как способность организмов (клеток) обратимо приостанавливать процессы жизнедеятельности.

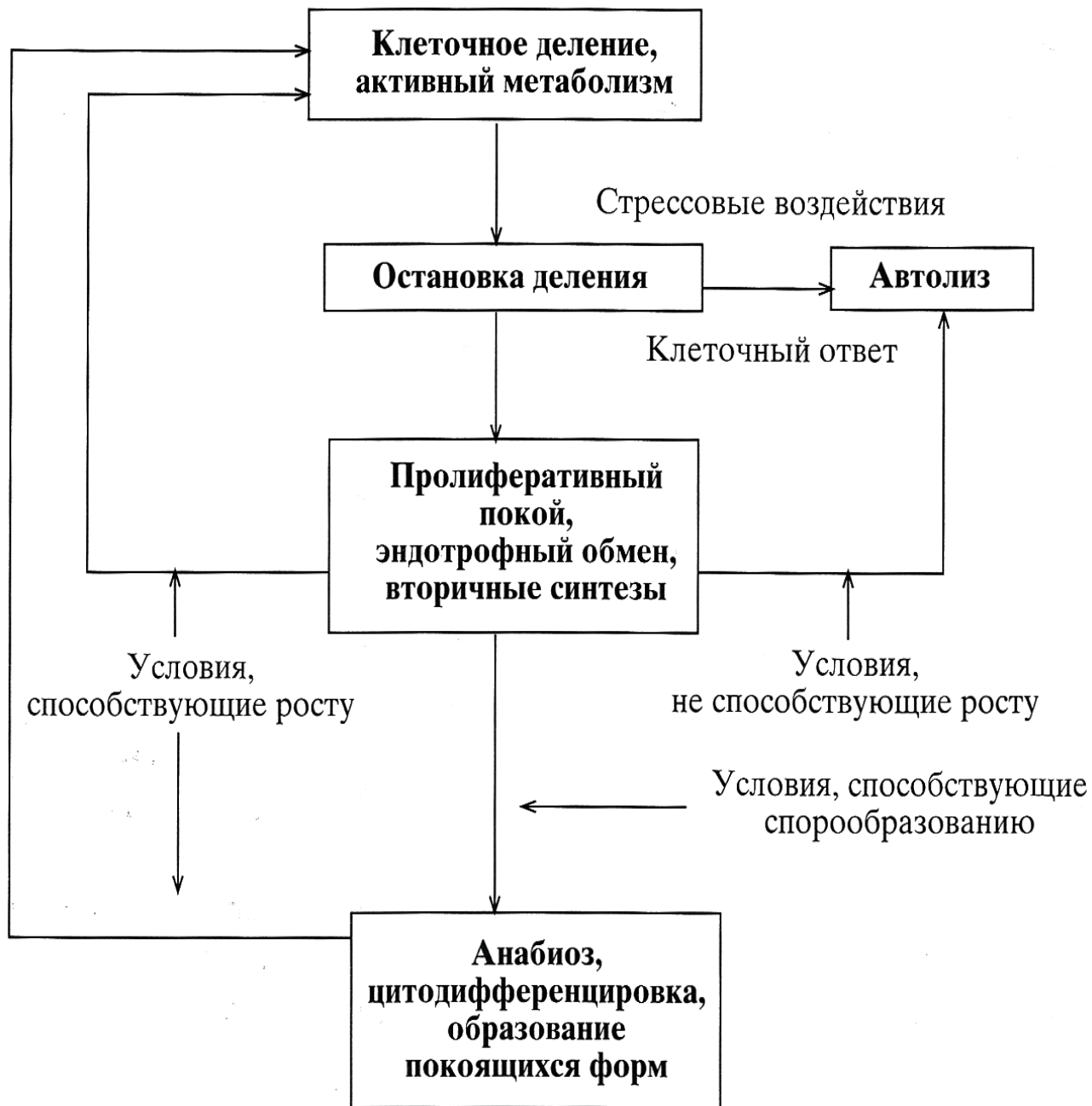
Покой - как универсальная форма адаптации бактерий (равно как и других организмов) к меняющимся условиям среды

- Стратегия переживания **спорообразующими** микроорганизмами неблагоприятных воздействий - образование специализированных (анабиотических) метаболически покоящихся форм:
 - споры
 - цисты
 - конидии
 - акинеты

- Переход **неспорообразующих** бактерий в состояние «вегетативного» покоя, именуемое как «dormant state» (покоящееся, дремлющее состояние):
 - дормантные клетки

Свойства покоящихся (дормантных или некультивируемых) клеток

- ❑ Могут находиться в состоянии репродуктивного и метаболического покоя.
- ❑ Переход в состояние покоя всегда обусловлен действием стрессорных факторов и является следствием стресса.
- ❑ При сохранении стрессовой ситуации следуют два исхода: либо гибель клеток – их автолиз, либо включение генетической программы образования покоящихся репродуктивных форм.
- ❑ При этом отсутствует рост микроорганизмов на искусственных питательных средах и клеточных культурах.
- ❑ Обратимость процесса: если условия среды меняются на благоприятствующие росту, то микроорганизмы претерпевают стресс новой среды, меняют генетическую программу и возвращаются к активному метаболизму и размножению.



Метаболические превращения клеток микроорганизмов

[Бухарин О.В. и др., 2005]

Стрессорные факторы

- ❖ физиологические стрессы голодания (*starvation stress*), обусловленные лимитами различных источников питания и энергии
 - ❖ стресс новой среды, возникающий при перенесении старых или покоящихся клеток в свежую полноценную среду, благоприятную для роста
- ❖ осмотический, характерный для галофильных сапрофитных бактерий
- ❖ температурные – холодовой или тепловой стрессы

Грамотрицательные неспорообразующие бактерии, способные к переходу в некультивируемое состояние

Вид бактерий	Источник
<i>Aeromonas salmonicida</i>	Morgan et al, 1993; Byrd et al, 1991
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Byrd et al., 1991
<i>Campylobacter jejuni</i>	Beumer et al.,1991
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Byrd et al., 1991
<i>Enterococcus faecalis</i>	Barcina et al., 1990
<i>Escherichia coli</i>	Xu et al., 1982; binder, Oliver, 1989
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Byrd et al., 1991
<i>Legionella pneumophila</i>	Hussong et al, 1987
<i>Listeria monocytogenes</i>	Пушкарева и др., 1997
<i>Pseudomonas putida</i>	Morgan et al., 1989
<i>Pasteurella piscicida</i>	Magarinos et al., 1994
<i>Salmonella enteritidis</i>	Roszak et al, 1984
<i>Salmonella typhimurium</i>	Аксенов и др., 1994

Грамотрицательные неспорообразующие бактерии, способные к переходу в некультивируемое состояние

Вид бактерий	Источник
<i>Shigella sonnei, flexneri</i>	Colwell et al., 1985
<i>Shigella dysenteria</i>	Islam et al, 1993
<i>Vibrio anguillarum</i>	Hoff, 1989
<i>V. campbelli</i>	Wolf, Oliver, 1992
<i>V. cholerae</i>	Xu et al, 1982; Wolf, Oliver, 1992
<i>V. mimicus</i>	Wolf, Oliver, 1992
<i>V. natrigens</i>	Wolf, Oliver, 1992
<i>V. parahaemolyticus</i>	Wolf, Oliver, 1992
<i>V. proteolyticus</i>	Wolf, Oliver, 1992
<i>V. salmonicida</i>	Hoff, 1989
<i>V. vulnificus</i>	Wolf, Oliver, 1992
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Аксенов и др., 1995
<i>Francisella tularensis</i>	Романова и др., 2000а

В полной мере сказанное
относится и к проблеме
персистенции
бактериальных патогенов
(в т.ч. хламидий) –
адаптивной стратегии
выживания вида в
условиях инфекции



Исход любого инфекционного процесса определяется тремя компонентами:



Исходы инфекции



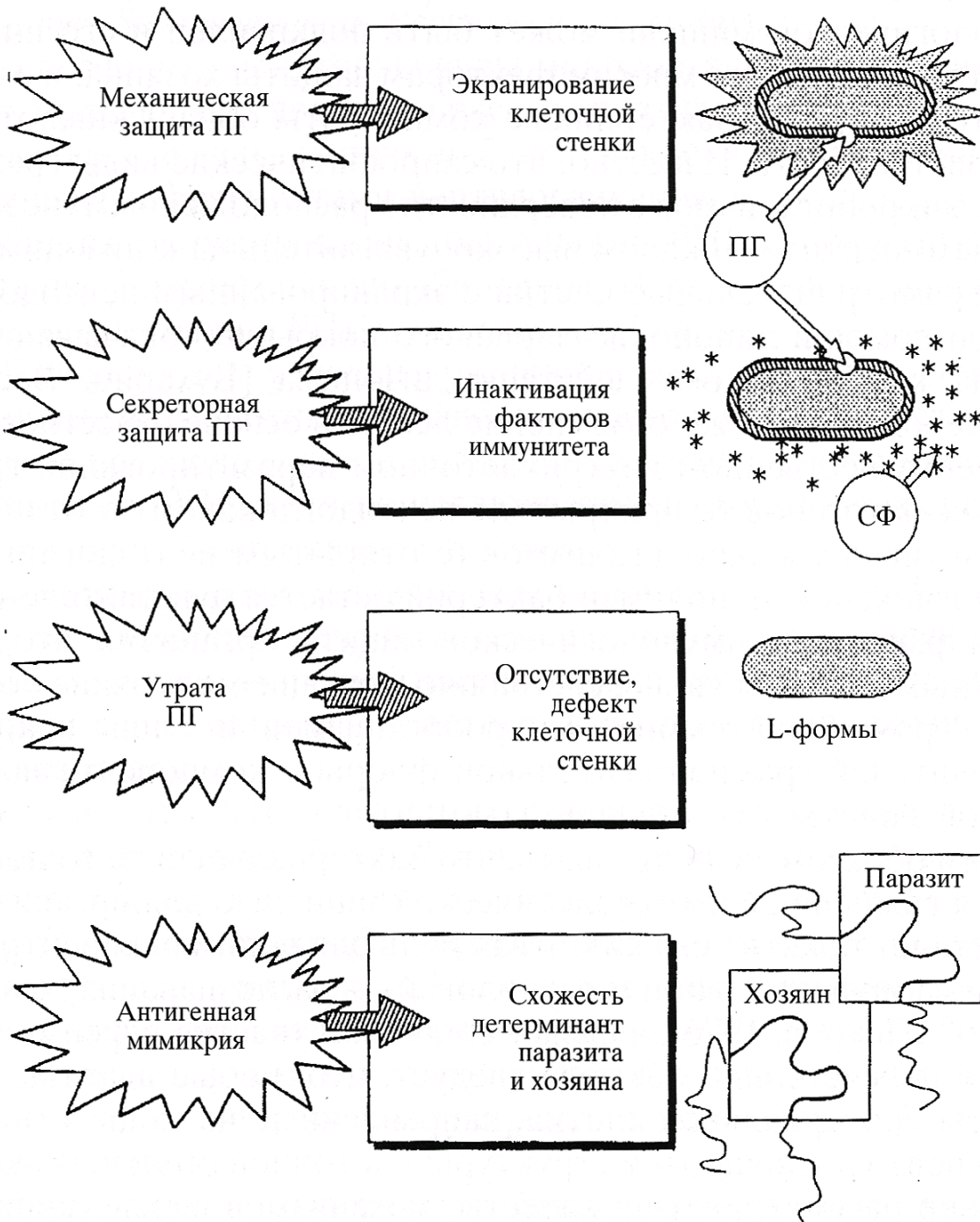
- ❑ выздоровление организма
- ❑ гибель
- ❑ хронизация инфекции в виде:
 - носительства
 - хронического заболевания

В основе хронизации - длительное переживание возбудителя в организме хозяина или персистенция (от лат. *persistere* – оставаться, упорствовать).

Персистенция или устойчивое сосуществование с хозяином возможно при наличии определенных биологических свойств микроорганизмов, с одной стороны, и дефектности защиты хозяина – с другой [Бухарин О.В. и др. 2006].

Механизмы персистенции

В процессе взаимодействия с макроорганизмом у возбудителя эволюционно закрепилось четыре способа защиты (изоляции) пептидогликана от факторов иммунитета

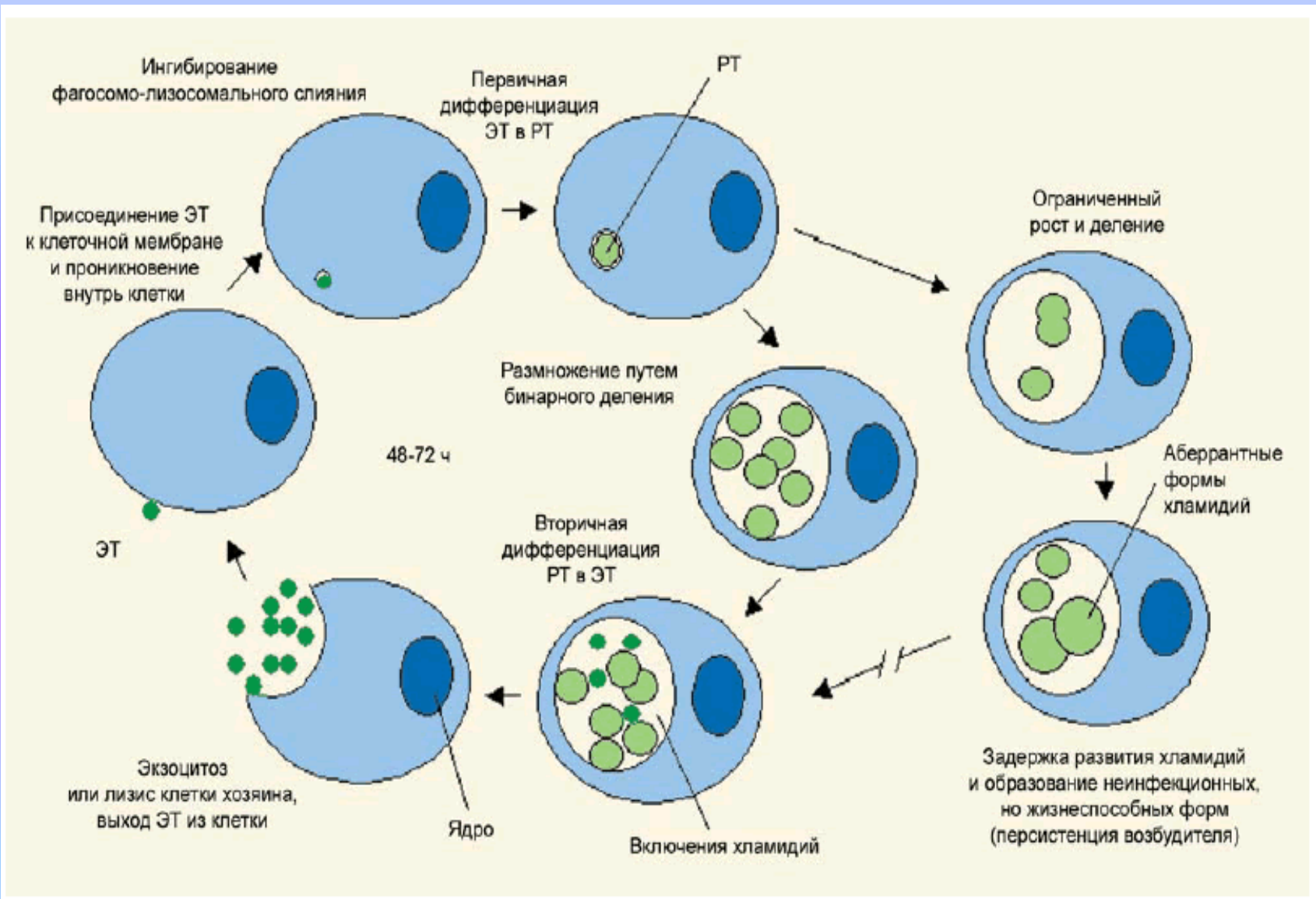


Аберрантные персистентные формы хламидий

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

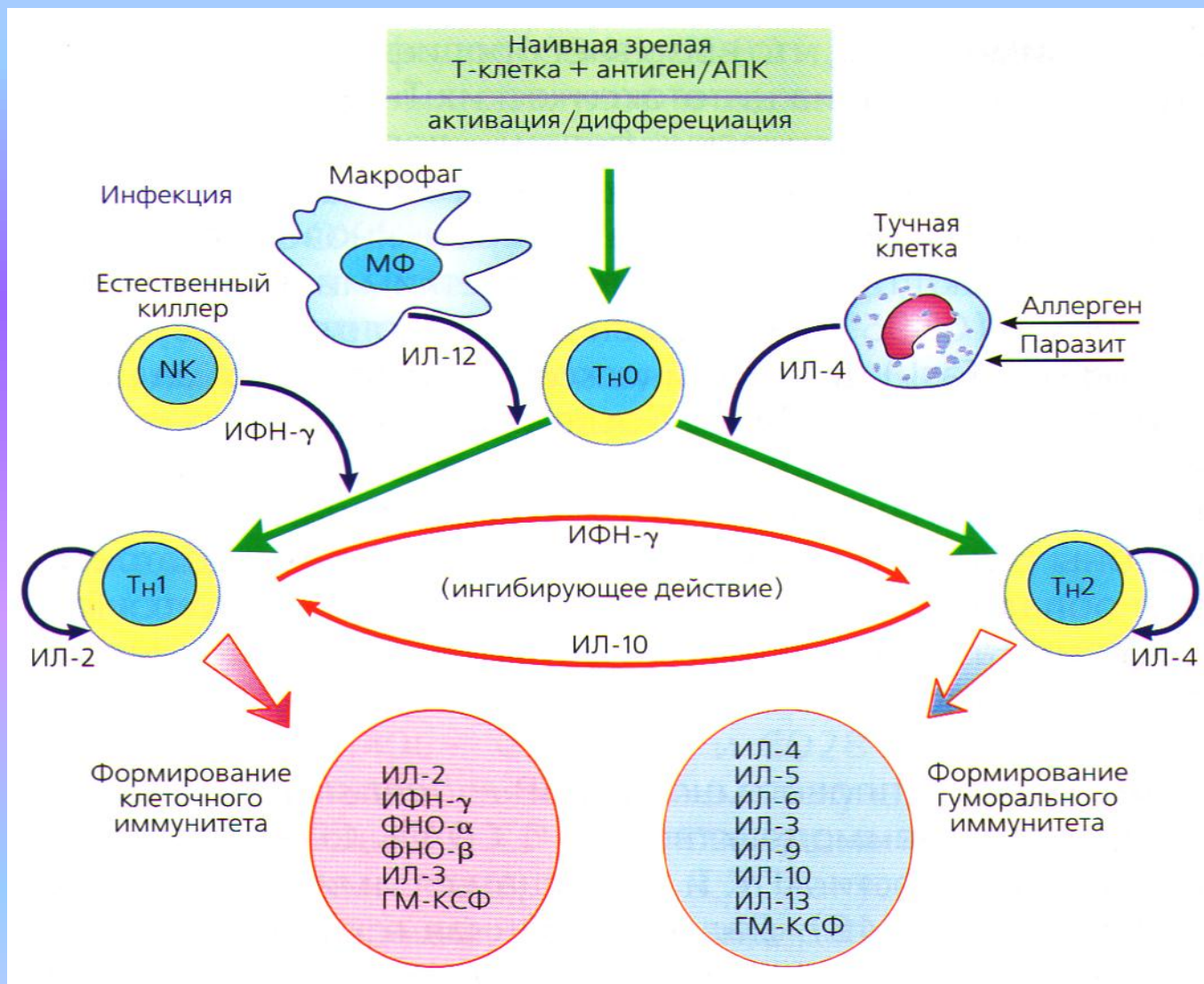
В аберрантой форме имеется сочетание несколько механизмов персистенции:

- ❖ утрата клеточной стенки (Л-форма)**
- ❖ некультивируемое, репродуктивно покоящееся состояние с гипобиозом в виде гипометаболизма**



Жизненный цикл хламидий

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



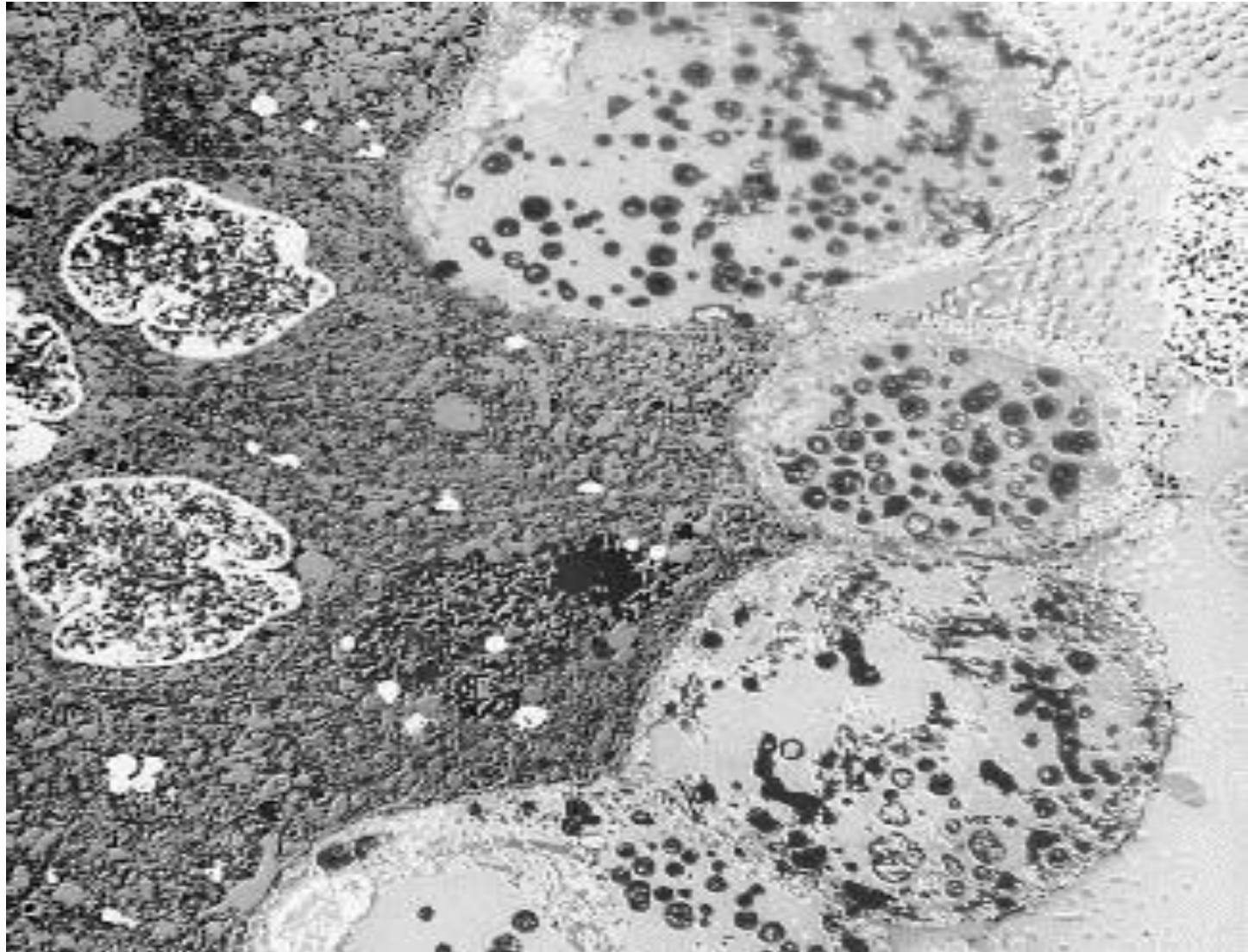
Ретикулярные тельца

Элементарные тельца

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)

Урогенитальный хламидиоз – *Chlamydia trachomatis*



Значение персистентных форм в патогенезе хламидийной инфекции

Способность хламидий ингибировать слияние фагосом с лизосомами



➤ Непродуктивность фагоцитоза.

➤ Приостановление роста хламидий в моноцитах и макрофагах в промежуточном состоянии *на стадии между ЭТ и РТ*

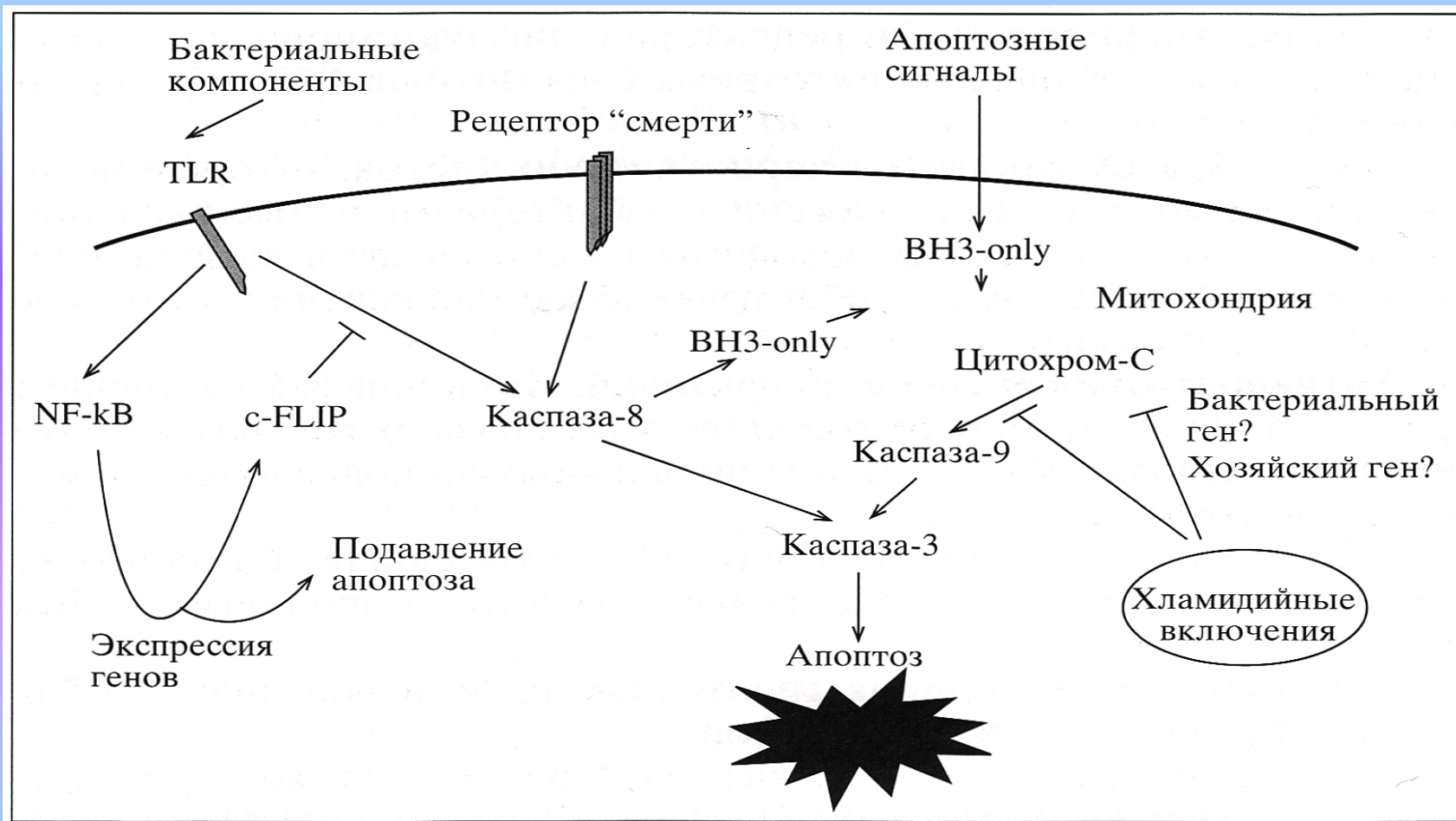


➤ Образование «аберрантных» РТ, продуцирующих минимальное количество структурных антигенов (LPS, МOMP и др.), но усиленно экспрессирующие белок теплового шока хламидий - *heat shock protein* (hsp-60)



➤ Вследствие почти **50% гомологии** с таким же белком человека, в организме может усиливаться образование **аутоантител** (из-за реактивации других реакций ГЗТ в пораженных тканях) [Beatty W.L. et al., 1994]

Бактериальная регуляция апоптоза



Ингибирование хламидиями апоптоза происходит, по крайней мере, на двух этапах сигнального пути: до выхода цитохрома С из митохондрий и до активации каспазы 9

Эндогенные факторы персистенции *C. trachomatis*

Медиатор	Эффект
Низкие концентрации γ -интерферона	Резкое снижение количества эндогенного триптофана (активация фермента индоламин-2,3-диоксигеназы, расщепляющего триптофан до N-формилкинуренина)
ФНО- α	Опосредованный, путем активации β -ИФ (блокирует репродукцию внутриклеточных микроорганизмов, путем усиления экспрессии мембранных белков клеток)
Дефицит эндогенного триптофана	Необходим для построения МОМР
Дефицит цГМФ и высокое количество цАМФ	Отсутствие активации ферментов необходимых для дифференциации РТ в ЭТ

Эндогенные факторы персистенции *C. trachomatis* (продолжение)

Медиатор	Эффект
Дефицит и/или действие антагонистов Ca²⁺	Нарушение агрегации эндосомальных вакуолей
L-изолейцин	Эффект возможно обусловлен включением продукта метаболизма α-метилбутарил-СoА в синтез жирных кислот <i>C. trachomatis</i> с последующим встраиванием "чужих" триглицеридов в клеточную мембрану, приводя к ее дестабилизации
Дефицит цистеина	Незаменима аминокислота, контролирующая дифференциацию РТ в ЭТ (включается в 3 важнейших для дифференциации белка), уменьшение числа дисульфидных мостиков - факторов прочности клеточной стенки.

Экзогенные факторы персистенции *C. trachomatis*

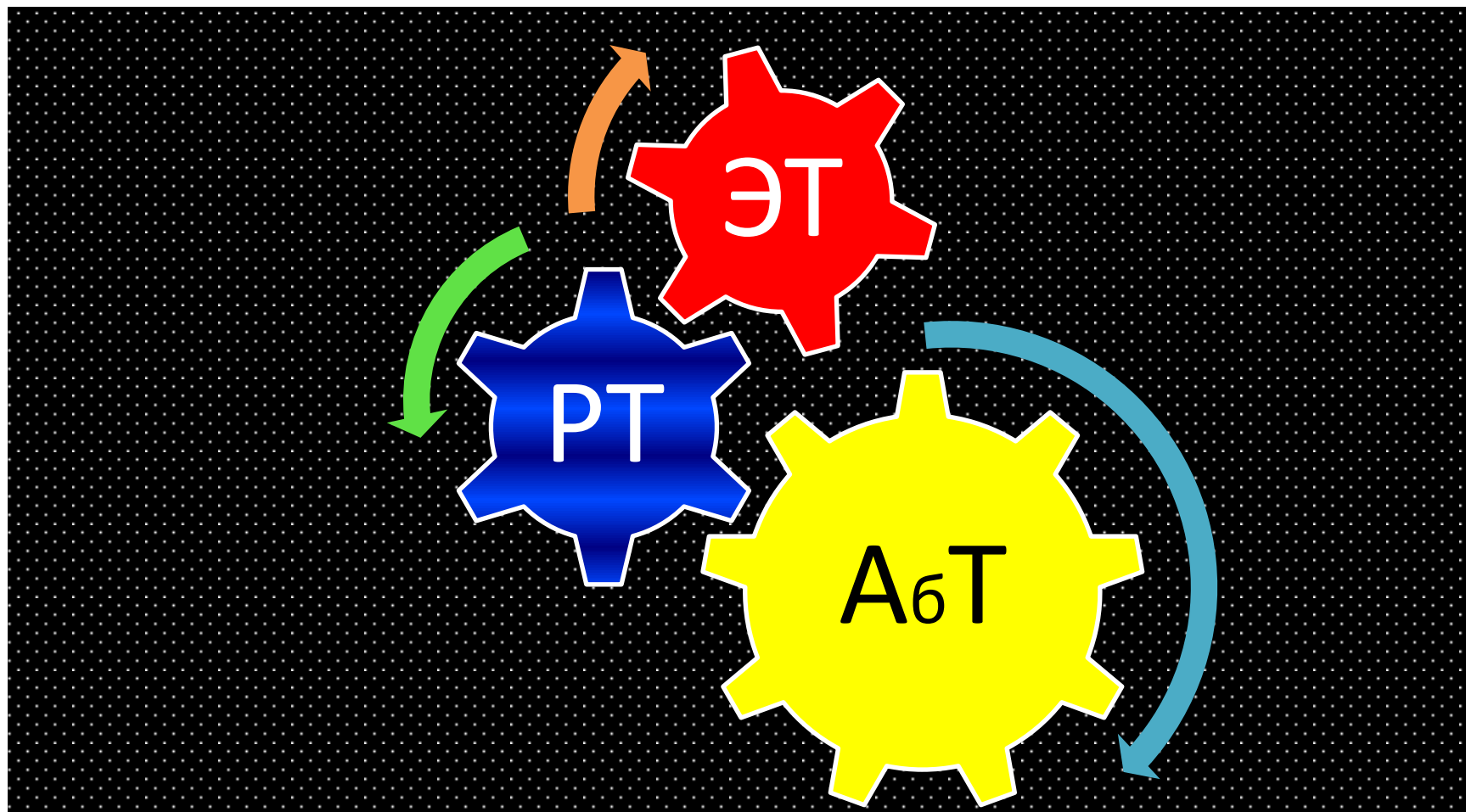
- ❖ Применение малых доз антибиотиков (*in vivo*, *in vitro*)**
- ❖ Применение неадекватных доз иммуномодуляторов (*in vivo*, *in vitro*)**
- ❖ Выращивание хламидий в дефицитной культуральной среде (*in vitro*)**

Молекулярные маркёры персистенции хламидий

- Усиление экспрессии генов, ответственных за выработку хламидийного белка теплового шока - **Chsp60**.
- Уменьшение экспрессии генов, ответственных за **MOMP** (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.

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

Структура популяции хламидий, участвующих в инфекционном процессе



**Информативность тестов
для идентификации
аберрантных
(персистентных) форм
хламидий**

Цитологические методы

Электронная микроскопия

- ❖ **Является информативным методом т.к. позволяет визуализировать aberrantные (персистирующие) формы хламидий.**
- ❖ **Недостатком метода является дороговизна и недоступность для проведения обследования широкого круга пациентов.**
- ❖ **Материалом может служить не только эпителий слизистых оболочек половых путей, доступных при физикальном обследовании, но и биопсийный материал из пораженных тканей (спайки, маточные трубы).**

Цитологические методы

Электронная микроскопия

- ❖ При проведении исследования необходимо ориентироваться на наличие:
 - гигантских РТ с расширенным периплазматическим пространством;
 - деления протопласта РТ и отшнуровки мелких шаровидных форм в периплазматическом пространстве;
 - мелковакуолярных включений, лежащих на периферии клеток, медленно транспортирующихся в перинуклеарную зону;
 - огромного количества мембранных пузырьков неправильной формы внутри РТ.

Цитологические методы

Бактериоскопия

**Имеет низкую специфичность
(не более 30 %).**

**Поэтому данный метод в настоящее время
представляет больше историческую, чем
практическую ценность.**

Цитологические методы

Методы прямой и непрямой иммунофлуоресценции

не применимы для диагностики персистирующей инфекции, так как основаны на обнаружении светящихся комплексов антигенов возбудителя - основного белка наружной мембраны (MOMP – *main outer membrane protein*) и липополисахарида (ЛПС), находящихся на поверхности ЭТ хламидий, расположенных внеклеточно. ЭТ выявляются лишь в 8,2 % случаев.

У аберрантных форм блокирована продукция MOMP, ЛПС и патоген находится внутриклеточно.

Культуральный тест

- ❖ Метод культуры клеток также малоэффективный, так как в одном пассаже в культуре клеток хламидий при персистирующей инфекции, как правило, не выделяются вследствие **неинфекционности и непродуктивности aberrantных включений**.
- ❖ Только при многократном перевивании в связи со снятием влияния факторов персистенции может наступить реверсия микроорганизмов с образованием типичных ЭТ и РТ.

Определение белка теплового шока (Chsp60) и антител к нему

Определение Chsp60 и антител к нему малоспецифично.

Причины:

- ❖ Доказана его 50% гомология с таким же белком человека - hsp60, 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 hsp60 способны также все бактерии и другие клетки в процессе своего нормального функционирования.

Молекулярно-генетические методы

ПЦР и real-time ПЦР

- ❖ Самый перспективный методом детекции аберрантных (некультивируемых) форм бактерий (в т.ч. хламидий)
- ❖ 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 как таковых можно заменить амплификацией видоспецифичного для данной бактерии фрагмента ДНК.

Молекулярно-генетические методы

ПЦР и real-time ПЦР

Однако:

часть исследователей считают не вполне правомочным использование метода классической ПЦР (real-time ПЦР) для выявления некультивируемых форм бактерий из-за возможности индикации не только жизнеспособных некультивируемых клеток, но и мертвых, содержащих генетический материал!

Молекулярно-генетические методы

ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР)

Метод, исключающий этот недостаток.

- ❖ 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.**

Молекулярно-генетические методы

Комплексная оценка транскрипции маркеров всех стадий патогена

- ❖ На современном этапе методы молекулярной генетики дают возможность осуществлять комплексную оценку транскрипции маркеров всех стадий и дают подтверждение перехода бактерии в персистирующее состояние:
 - определение гена *eio* – маркера стадии преобразования ЭТ в РТ;
 - генов *Ftsk*, сигма-факторов 28 и 66, *YgeD* – маркеров деления клеток хламидий;
 - генов *60srp*, *15srp*, *crp*, *hstA*, *hstB* – как генетических признаков зрелых инфекционных ЭТ.

- ❖ Однако эти методы ресурсоемкие и пока не применимы в лабораториях практического здравоохранения.

Таким образом, теоретически

лабораторным подтверждением наличия персистирующей хламидийной инфекции с присутствием аберрантных 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 МОМР хламидий по данным прямой и непрямой иммунофлуоресценции
- ❖ выявлением мелковакуолярных цитоплазматических включений (МЦПВ) хламидий в культуре клеток
- ❖ Отсутствии **транскрипции маркеров стадий патогена - ЭТ и РТ.**

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**

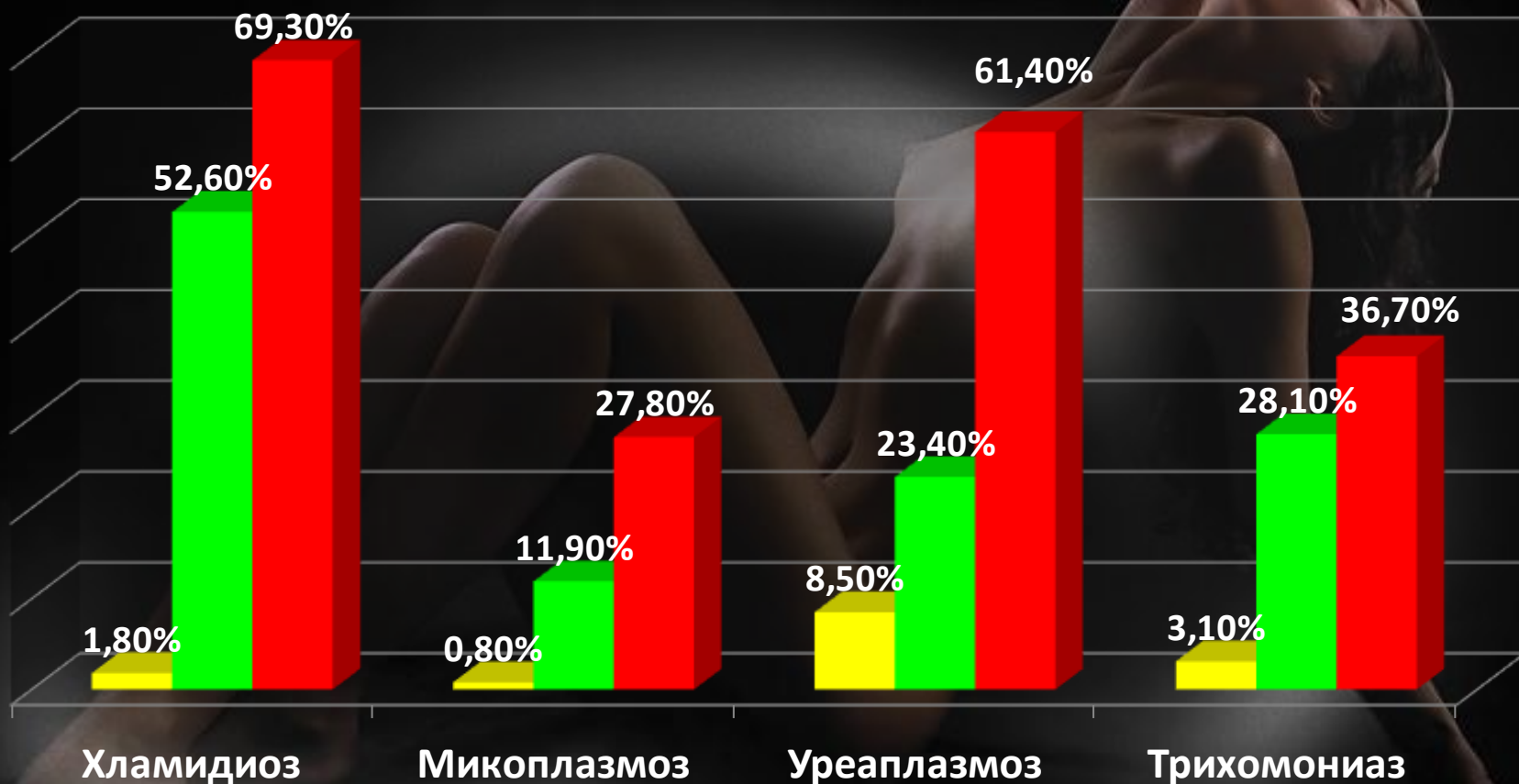
Варианты обсеменённости хламидиями различных эпителиев репродуктивной системы у женщин

Эпитопы	Шейка матки	Полость матки	Придатки	Острота процесса
Вариант 1	■	□	□	Чаще острый процесс
Вариант 2	■	■	□	Острый и хронический
Вариант 3	■	■	■	Чаще хронический
Вариант 4	□	■	■	Чаще хронический
Вариант 5	□	□	■	Чаще хронический

Варианты обсеменённости хламидиями различных эпителиев репродуктивной системы у мужчин

Эпитопы	Уретра	Предстательная железа	Семенные пузырьки	Придатки яичек и яички	Острота процесса
Вариант 1	■				Чаще острый процесс
Вариант 2	■	■			Чаще 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

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

Принципы терапии

Лечение с учётом персистенции

- ❑ Персистенция хламидий требует особого подхода к больному - применение одних антибиотиков при этой форме инфекции, как правило, недостаточно, поскольку все эффективные в отношении хламидий антибиотики обладают бактериостатическим действием и способны оказывать свое действие только на размножающиеся бактерии.
- ❑ Поскольку при персистенции жизненный цикл хламидий приостанавливается на неопределенное время, использование антибиотиков в этом периоде не способно привести к гибели микроорганизмов, остановившихся в своем развитии.
- ❑ Однако лечение инфекции крайне необходимо так как сохранение персистирующего патогена предполагает его реверсию в РТ и ЭТ, что, в свою очередь, может сопровождаться различными патоиммунологическими реакциями, приводящими к формированию бесплодия.

Примеры предшествующей назначению антибиотиков иммунотерапии (Гомберг М.А.и др., 2006)

■ **Полиоксидоний** по 6 мг внутримышечно 1 раз в сутки; первые 2 инъекции ежедневно, затем 3 инъекции через день, остальные 2 раза в неделю, всего на курс 10 инъекций; после 4-й инъекции начинают курс антибактериальной терапии.

■ **Иммуномакс** по 200 МЕ (1 флакон) внутримышечно 1 раз в сутки, 3 инъекции ежедневно, затем перерыв 4 дня и еще 3 ежедневные инъекции, всего на курс 6 инъекций; после 3-й инъекции начинают курс антибактериальной терапии.

■ **Виферон** (интерферон-альфа2b) в виде ректальных суппозиторий в два 5-дневных цикла с интервалом в 2 нед между ними в суммарной дозе 10 млн МЕ на курс.

■ **Циклоферон** (низкомолекулярный индуктор интерферона) – аналог растительного алкалоида *Citrus Grandis*, обладающий пролонгированным иммуномодулирующим, противовоспалительным и противовирусным действием; рекомендуется применение антибиотика, начиная со второй инъекции циклоферона.

□ Доказан хороший эффект после применения препарата **«Суперлимф»** - активатора ретрансформации аберрантных форм хламидий в репродуктивные. Назначали перед антибактериальной терапией в виде ректальных свечей по 1 свече перед сном, в течение 5-10 дней

[Кашеваров Д.Ф.,2005].

□ Целесообразно сочетание иммуномодулирующей и антибиотикотерапии с модуляторами процессов клеточной гибели и пролиферации. В этом качестве предлагается препарат **«Ресвератрол»**, который вызывает активацию апоптоза в культуре инфицированных клеток, что приводит к подавлению хламидийной инфекции в условиях *in vitro*. Впервые показано, что ресвератрол подавляет накопление *S.typhimurium* в легких экспериментально инфицированных животных и защищает от развития летальной пневмонии у мышей. [Борцов П.А.,2010].

Излеченность

Излеченность от персистентной хламидийной инфекции

- ❖ Вопрос об эффективности лечения при репродуктивно значимых инфекциях основывается на определении **клинической** и **этиологической** излеченности или выздоровлении.
- ❖ Если говорить о **клиническом выздоровлении**, то разработан целый комплекс клинико-инструментальной и лабораторной оценки наличия или отсутствия воспалительных очагов в органах репродуктивной системы, который достаточно успешно применяется в настоящее время в клинической практике.

Излеченность от персистентной хламидийной инфекции

- ❖ Однако клиническое выздоровление не всегда сопровождается этиологическим (эрадикацией возбудителя); в этом случае мы говорим о **неполном выздоровлении** (с остаточными явлениями) **без санации** от возбудителя, при котором возможны:
 - рецидивы в ближайшем будущем из-за активации старых и/или появления новых воспалительных очагов;
 - при отсутствии очагов – формирование **латентной формы** инфекции

Оценка клинической излеченности от инфекций может быть эффективной, но недостаточной для решения репродуктивных проблем.

Оценка этиологической излеченности весьма затруднительна из-за:

- **недоступности хламидий у женщин и мужчин для применения прямых методов**
- **слабой иммуногенности**
- **отсутствия специфических антител в сыворотке крови, а если они и определяются, то их негативация нередко растянута во времени и не всегда свидетельствует об элиминации возбудителя**
- **низкого качества диагностических тестов (серологических)**

Прямые тесты (ПЦР, rel-time ПЦР, ОТ-ПЦР)

Применение их зависит от доступности патогена для исследования.

- ❖ При подтверждении диагноза с помощью ПЦР (а это чаще всего бывает при остром процессе), его негативация через **4-8 нед.** после окончания лечения не всегда свидетельствует об эрадикации возбудителя; возможно превращение последнего в **аберрантную форму** или **уменьшение его обсемененности в первичных половых путях** и в связи с этим **уменьшение вероятности попадания его в исследуемый материал.**
- ❖ При отсутствии определения патогена в прямом тесте до проведения терапии из-за его недоступности по причине восходящей инфекции – какие-либо возможности лабораторного контроля этиологической излеченности прямыми тестами отсутствуют.

Варианты обсеменённости хламидиями различных эпителиев репродуктивной системы у женщин

Эпитопы	Шейка матки	Полость матки	Придатки	Острота процесса
Вариант 1	■	□	□	Чаще острый процесс
Вариант 2	■	■	□	Острый и хронический
Вариант 3	■	■	■	Чаще хронический
Вариант 4	□	■	■	Чаще хронический
Вариант 5	□	□	■	Чаще хронический

Варианты обсеменённости патогеном различных эпитопов репродуктивной системы у мужчин

Эпитопы	Уретра	Предстательная железа	Семенные пузырьки	Придатки яичек и яички	Острота процесса
Вариант 1	■	□	□	□	Чаще острый процесс
Вариант 2	■	■	□	□	Чаще 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

Косвенные (серологические) тесты

- Серологические тесты (антитела к Chsp60) малоспецифичны.**
- Динамика специфических антител (IgG и IgA) к поверхностным белкам клеточной стенки не является достоверным свидетельством эрадикации патогена даже при негативации IgA в течение длительного периода наблюдения (9-12 месяцев).**

Динамика специфических IgA к хламидиям после лечения

	До лечения	После лечения		
		Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Через 9 месяцев
Вариант 1	1/16	1/8	--	--
Вариант 2	1/8	1/16	1/32	1/32
Вариант 3	1/8	1/16	1/8	1/8
Вариант 4	--	1/8	--	--

Минимальный диагностический титр IgA к хламидиям – 1/8
ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgA (Organics Ltd., Израиль)

Рищук С.В. Способ оценки эффективности лечения хронического уrogenитального хламидиоза половых партнёров / С.В. Рищук, Д.Ф. Костючек // Патент на изобретение № 2229720 RU С2 МКІ G01 N33/35. – 2004.

- ❖ **Нами был предложен способ доказательства реинфекции в паре с помощью ПЦР при её динамическом наблюдении в течение длительного периода времени (около 6 месяцев) при её половой жизни без барьерных методов контрацепции.**
- ❖ **Он основывается на высокой информативности молекулярно-генетических методов при свежей реинфекции одного из половых партнёров другим с залеченной инфекцией (в виде носительства или латентной формы заболевания).**

Алгоритм определения излеченности пары от урогенитального хламидиоза

Представитель пары

При положительной ПЦР до лечения

При положительном IgA в сыворотке до лечения

ПОЛОВАЯ ЖИЗНЬ ТОЛЬКО С ПРИМЕНЕНИЕМ БАРЬЕРНЫХ МЕТОДОВ ЗАЩИТЫ

Контроль через 3-4 недели после окончания лечения
результат положительный результат отрицательный

Контроль через 7-8 недель после окончания лечения
результат положительный результат отрицательный

Контрольное исследование крови на IgA через 3 месяца после окончания лечения
элиминация IgA диагностические титры IgA

Контрольное исследование крови на IgA через 6 месяцев после окончания лечения
элиминация IgA диагностические титры IgA

ПОЛОВАЯ ЖИЗНЬ БЕЗ БАРЬЕРНЫХ МЕТОДОВ ЗАЩИТЫ

Контроль полового партнёра в ПЦР через 3-4 недели после снятия презерватива

Лечение представителя пары

показано

положительный тест

отрицательный тест

Лечение представителя пары

показано

Контроль полового партнёра в ПЦР через 7-8 недель после снятия презерватива

положительный тест

отрицательный тест

Контроль полового партнёра в ПЦР через 11-12 недель после снятия презерватива

положительный тест

отрицательный тест

Лечение представителя пары не показано

Таким образом:

- ❑ Проблема персистентной хламидийной инфекции в современной инфектологии и репродуктологии является актуальной и нерешённой как в диагностическом, лечебном аспектах, так и в плане установления этиологической излеченности.**
- ❑ Борьба за выживание в организме хозяина формирует у хламидий различные механизмы адаптации, которые опережают возможности их познания и использования этих познаний в клинической практике.**