

Сучасні методи діагностики хламідійної та мікст-хламідійних сечостатевих інфекцій

Дасюк Т.Є.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИЙНОЙ И МИКСТ-ХЛАМИДИЙНЫХ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ Дасюк Т.Е.

Рассмотрены наиболее широко используемые методы выявления *Chlamydia trachomatis*.

THE PRESENT-DAY METHODS OF DIAGNOSTICS OF CHLAMYDIAL AND MIXED CHLAMYDIAL UROGENITAL INFECTIONS Dasyuk T. E.

The most widespread methods for the detection of *Chlamydia trachomatis* have been considered.

Діагноз сечостатевого хламідіозу, як і будь-якого інфекційного захворювання, базується на даних клініки, епіданамнезу, результатів лабораторного та інструментального обстеження. Часто лабораторні методи дослідження відіграють вирішальну роль у встановленні діагнозу, хоча діагностична цінність різних методів неоднозначна. Лабораторні методи визначають тактику і оцінюють ефективність етіотропної терапії, є основою для епідеміологічного нагляду. У частини пацієнтів скарги і клінічні ознаки відсутні, і тільки в лабораторії можна виявити наявність *Chlamydia trachomatis* в організмі [1].

Проблеми детекції *Ch. trachomatis* пов'язані з [2]:

- наявністю асоційованих інфекцій, що передаються статевим шляхом (ІПСШ);
- існуванням латентних і персистентних форм хламідій.

Надійність методу діагностики визначається також якістю взяття клінічного матеріалу, умовами транспортування, зберігання тощо [3, 4]. «В багатьох випадках у зв'язку з труднощами лабораторної діагностики своєчасно не визначаються істинні хламідіози різної локалізації, їх інтерпретують під іншими діагнозами» [5]. При діагностиці хворих на сечостатевий хламідіоз необхідно також проводити обстеження для виключення супутніх ІПСШ та застосовувати допоміжні методи обстеження (уретроскопію, УЗД, кольпоскопію тощо) [6].

Сьогодні лабораторна служба шкірно-вене-

рологічних закладів вступає в етап модернізації, і особливу актуальність набуває проблема стандартизації методів діагностики, контроль якості роботи лабораторій тощо [7].

Згідно даних літератури [4], для лабораторної діагностики хламідійної інфекції доцільно застосовувати:

- мікробіологічне дослідження;
- реакцію імунофлюоресценції (РІФ);
- молекулярно-біологічні методи (МБМ);
- серологічні методи (імуноферментний аналіз – ІФА);
- методи експрес-діагностики (імунохроматографічні і ферментспецифічні).

І. І. Мавров та співав. (2007) для діагностики сечостатевого хламідіозу пропонують визначати *Ch. trachomatis* безпосередньо в уражених клітинах [1]:

- методом Романовського–Гімзе;
- методом флюоресцентних антитіл (МФА);
- виявлення антигенів хламідій методом ІФА;
- виділення збудника в культурах клітин і виявлення хламідійних антитіл:

- 1) реакцією непрямой імунофлюоресценції (РНІФ);
- 2) ІФА;
- 3) реакцією зв'язування комплекта (РЗК);
- 4) реакцією непрямой гемаглютинації (РНГА);
- 5) високоінформативними МБМ.

Метод виявлення морфологічних структур

у досліджуваному матеріалі, пофарбованих за Романовським–Гімзе, є класичним методом і передбачає виявлення цитоплазматичних включень, що утворюються хламідіями, шляхом фарбування збудника азур-еозином і дослідження при імерсійній мікроскопії. Виявлення цитоплазматичних включень у препаратах дозволяє діагностувати хламідійну інфекцію, що перебігає як маніфестно, так і асимптомно. У зішкрябах із слизової уретри або цервікального каналу можливе виявлення і диференціювання *Ch. trachomatis* на елементарні (ЕТ) і ретикулярні тільця (РТ). Цитологічний метод є доступний для будь-якої лабораторії, простий при виконанні; перевагою методу є також швидкість виконання аналізу та невисока вартість [8].

Цитологічний метод (фарбування за методом Романовського–Гімзе) має досить високу специфічність (біля 70 %), хоча чутливість цього методу – біля 55 %. Тобто, цитологічний метод виявлення *Ch. trachomatis* є орієнтабельним, а відсутність хламідій не виключає наявності інфекції. Одночасно з виявленням хламідійних включень можна отримати інформацію про наявність додаткової бактеріальної флори. Саме тому на першому етапі науковці вважають за необхідне починати дослідження з цитологічного методу, як «скринінгового», враховуючи його низьку вартість та швидкість [9].

Метод культури клітин дозволяє виявити живого збудника хламідійної інфекції та до недавнього часу вважався «золотим стандартом», але з появою сучасних модифікацій МБМ його першість стала дискусійною. Чутливість при використанні зразків з шийки матки та уретри варіює в межах 40-85 % [10]. Хламідії виявляли в культурі клітин, при негативних результатах ІФА, у 12 % пацієнтів з хронічним сечостатевим хламідіозом і тривалістю захворювання більше трьох років [11]. «Культуральне обстеження, проведене раніше, ніж через 10-14 днів після лікування, може дати хибний результат через малу кількість хламідій у досліджуваному зразку» [12]. Недоліком методу є його складність, дотримання температурного режиму при транспортуванні зразків, великий ризик зараження персоналу; метод підходить лише для невеликої кількості інвазивних зразків (із шийки матки та уретри) [10, 13, 14].

Принцип методу РІФ полягає у виявленні родоспецифічних антигенів *Ch. trachomatis*. Відомо два типи РІФ: пряма імуофлюоресценція (ПІФ) і РНІФ. Основним недоліком РІФ є

суб'єктивність оцінки результатів [4, 8, 15].

З практичної точки зору, найзручнішим та найінформативнішим на сьогодні вважається метод ПІФ, що використовується для виявлення хламідій в уретральних, цервікальних, ректальних зішкрябах і респіраторних зразках від новонароджених, – метод відносно швидкий. Чутливість методу складає 50-90 % і залежить від досвідченості персоналу і кількості ЕТ у зразку. Специфічність ПІФ складає біля 70-75 % для цервікальних зразків і дещо нижча – для уретральних (у чоловіків). Ефективність терапії при використанні ПІФ необхідно вивчати не раніше, ніж через 3-4 тижні по завершенні лікування, бо можливе отримання хибнопозитивних результатів. Метод не підходить для дослідження великої кількості зразків, займає багато часу [10, 12, 16].

РНІФ досить специфічний і дозволяє виявити ЕТ у 50-90 % досліджуваних препаратів. Недоліками методу є низька чутливість, особливо при виявленні хламідій у безплідних чоловіків. Хибнонегативні результати можуть бути пов'язані з малою кількістю епітеліоцитів у клінічному матеріалі, великою кількістю лейкоцитів і слизу, а хибнопозитивні – з наявністю антигенів, що перехресно реагують з іншими бактеріями. Джерелом помилок можуть бути суб'єктивна інтерпретація результатів, неякісні діагностичні набори, складність обробки великої кількості зразків [8].

До серологічних методів детекції *Ch. trachomatis* відносяться РЗК і РНГА, що використовують для діагностики зоонозних хламідіозів і первинного скринінгу антропонозних хламідіозів; чутливість цих методів низька. Серологічним методом, що широко застосовується для діагностики сечостатевого хламідіозу, є ІФА, чутливість якого складає 20-85 %. Ефективність методу вища при гострому інфекційному процесі і нижча – при асимптомному, скритому, хронічному сечостатевому хламідіозі, а також залежить від якості тест-систем. Перевагою методу є можливість тестування великої кількості зразків, швидкість, автоматизація, низька вартість. Недоліки методу – специфічність висока тільки при підтвердженні позитивних результатів, підходить тільки для інвазивних зразків (із шийки матки, з уретри) [4, 8, 10]. Вважають [17], що серологічні методи є необхідними при скринінговому обстеженні пацієнтів на хламідії.

За рубежом розроблена методика виявлен-

ня хламідійного *hsp60* – модифікація методу мікроімунофлюоресценції (МІФ). Але, в зв'язку з недостатньою інформацією про даний метод та високу вартість, його застосування в умовах України обмежене.

Заслужують на увагу МБМ, в основі яких лежить виявлення специфічної нуклеотидної послідовності, властивий ДНК *Ch. trachomatis* і біооб'єкта. Серед модифікацій цього методу в нашій країні застосовується полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – один з найчутливіших і високоспецифічних методів. Механізм ПЛР базується на природній реплікації ДНК, що включає розходження ДНК і комплементарну добудову обох ланцюгів. Перевагою методу є можливість використання практично будь-якого клінічного матеріалу і діагностика не тільки гострих, але і латентних інфекцій. ПЛР дозволяє провести скринінг асимптомної хламідійної інфекції серед великої кількості населення і застосовується при дослідженні в багатьох клінічних лабораторіях світу. Достовірність дослідження цим методом залежить від техніки взяття клінічного матеріалу, обладнання лабораторії, відповідальності персоналу [18].

Лігазна ланцюгова реакція (ЛЛР) базується на ампліфікації ДНК-мішені з використанням термостабільного ферменту ДНК-лігази, що виділяється бактерією *Thermus thermophilus*, і широко використовується за кордоном. З появою методів ПЛР і ЛЛР стало можливим ідентифікувати індивідуальний генотип збудника і розрізняти персистенцію від реінфекції [19]. Чутливість методів ПЛР і ЛЛР приблизно однакова і становить більше 90 % [20].

Перевагою методу ампліфікації нуклеїнових кислот (МАНК) – *nucleic acid amplification test (NAAT)*, чутливість якого складає 70-95 % і специфічність – 97-99 %, є можливість тестування великої кількості зразків, використання як інвазивних (із шийки матки, з уретри), так і неінвазивних (сеча, проби біоматеріалу з вульви і піхви) зразків. Недоліками методу є висока вартість, можлива контамінація; інгібітори можуть створити проблему, особливо для зразків сечі [10].

Імунохроматографічні і ферментспецифічні методи експрес-діагностики хламідійної інфекції характеризуються простотою виконання, високою пропускну здатністю і, незважаючи на невисоку чутливість, можуть використовуватись для скринінгових досліджень [4].

На даний час не існує єдиного алгоритму

в схемі діагностичного обстеження пацієнтів з підозрою на хламідійну інфекцію [21]. Дані літератури [22, 23] свідчать, що за допомогою тільки одного методу лабораторної діагностики достовірно виявити збудника сечостатевого хламідіозу неможливо. Тому, як правило, використовують як мінімум дві методики, і тільки комплексне використання сучасних методів визначення *Ch. trachomatis* дозволяє визначити тактику проведення терапії. Для визначення *Ch. trachomatis* [24] рекомендовано застосовувати три основні діагностичні методи: метод Романовського–Гімзе, ПІФ і ПЛР. За даними літератури, вітчизняні дослідники для підтвердження діагнозу сечостатевого хламідіозу найчастіше використовують методи Романовського–Гімзе, ПІФ, ПЛР та ІФА.

Згідно Протоколу надання медичної допомоги хворим на сечостатево-хламідіоз [10], для лабораторної діагностики рекомендовано використовувати метод культури клітин, ПІФ, ІФА та МАНК.

У зарубіжних лабораторіях для детекції *Ch. Trachomatis*, згідно з численними даними літератури [25-27], широко використовують *NAATs*. *A. Stary* (2008) стверджує, що хоча на сьогодні *NAATs* вважається «золотим стандартом» для діагностики сечостатевого хламідіозу, у багатьох країнах світу він не застосовується, і однією з причин є його висока вартість [26]. Перевагою *NAATs* є висока чутливість і специфічність та придатність для дослідження самостійно зібраних зразків сечі, уретральних, ректальних зішкрябів та ін. [28-31]. Найдоступнішими є такі різновидності *NAATs*:

- стандартна полімеразна ланцюгова реакція (*standard polymerase chain reaction, sPCR*);
- полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі (*real time PCR, rtPCR*);
- ампліфікація ДНК з витісненням ланцюга, що синтезується (*strand displacement amplification, SDA*);
- ампліфікація шляхом транскрипції і гібридизації (*transcription mediated amplification, TMA*);
- ампліфікації нуклеїнових кислот (*nucleic acid sequence-based amplification, NASBA*).

У США серед 3,6 млн. тестів, проведених для ідентифікації *Ch. Trachomatis*, *NAATs* становили 64,4 %, з них [32]:

- *PCR* – 0,9 %;
- *SDA* – 31 %;
- *TMA* – 32,5 %.

NAATs часто використовують для детекції хламідій в асоціації з іншими мікроорганізмами, зокрема *Neisseria gonorrhoeae* [33-38].

У публікаціях останніх років є повідомлення [39-42] про те, що у 2006 р. в Швеції ідентифіковано новий варіант *Ch. trachomatis* (*nvCtr*), так зв. «*Swedish variant*», який з того часу ви-значається і в деяких інших країнах (Данії, Норвегії та ін.). Штам *nvCtr* (знайдено в сероварі *E*) характеризується делецією фрагменту криптичної плазмиди, частина якого ампліфікувалась тест-системою, що використовується для визначення, і призводить до псевдорезультатів. Встановлено,

ЛІТЕРАТУРА

1. Мавров И.И., Болотная Л.А., Сербина И.М. Основы диагностики и лечения в дерматологии и венерологии: Руковод. для врачей, интернов и студентов. - Харьков : Факт, 2007. - 792 с.
2. Шеремета В.В., Лебедюк М.М. Персистуюча хламідійна уrogenітальна інфекція: фактори і механізми виникнення та обґрунтування доцільності проведення подальших комплексних досліджень // Український журнал дерматології, венерології, косметології. - 2002. - № 2 (5). - С. 65-67.
3. Методологічні підходи до виділення збудників хламідіозів / В.В. Кутова, В.В. Гончаренко, С.К. Джораєва та ін. // Дерматологія та венерологія. - 2008. - № 1 (39). - С. 82-85.
4. Дмитриев Г.А., Глазко И.И. Диагностика инфекций, передаваемых половым путем. - М.: Изд-во БИНОМ. - 2007. - 320 с.
5. Хламідійна інфекція. Нові методи лікування / А.В. Руденко, О.В. Ромащенко, В.Т. Кругліков та ін. // Репродуктивное здоровье женщины. - 2005. - № 3 (23). - С. 38-44.
6. Мойсеева Н.В., Прохорова И.М., Скорина Т.Д. Деякі аспекти діагностики хламідіозу та інших ЗПСШ за даними поліклінічного відділення Чернівецького ОШВД / Тези доповідей I (VIII) з'їзду Української асоціації лікарів-дерматовенерологів і косметологів (Київ, 20-23 вересня 2005 р.) / Український журнал дерматології, венерології, косметології. - 2005. - Т. 18, № 3. - С. 218.
7. Мавров Г.И., Ярошенко А.А. Современные методы лабораторной диагностики инфекций, передающихся половым путем // Дерматологія та венерологія. - 2006. - № 4 (34). - С. 54-61.
8. Лабораторная диагностика уrogenітально-го хламидиоза: методич. рекомен. / А.Ф. Возианов, В.В. Ващенко, Г.Н. Дранник и др. - К., 2002. - 18 с.
9. Інформаційна цінність та етапність мікробіологічних методів дослідження у жінок з хламідійно-бактеріальною інфекцією / І.Б. Вовк, А.Г. Корнацька, О.О. Ревенько та ін. / Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. - 2005. - С. 486-490.
10. Наказ МОЗ України № 312 від 08.05.2009 р. Протокол надання медичної допомоги хворим на сечостатевиий хламідіоз. - К., 2009.
11. Диагностическое значение маркеров хламидийной инфекции при осложненной, неосложненной и бессимптомной формах уrogenітального хламидиоза / А.И. Епифановский, С.Ю. Сидорович, Г.В. Бармина и др. // ИППП. - 2003. - № 3. - С. 18-23.
12. Хара О.І. Стандарти діагностики гонореї, трихомоніазу, уреа(міко)плазму, хламідіозу та герпес-вірусної інфекції в акушерсько-гінекологічній практиці: Метод. рекомен. - Тернопіль : Джура, 2008. - 34 с.
13. Кутовая В.В., Джораева С.К. Опыт выделения хламидий в культуре клеток // Дерматологія та венерологія. - 2004. - № 2 (24). - С. 81-84.
14. Исаков В.А., Архипова Е.И., Ермоленко Д.К. Терапия уrogenітального хламидиоза: Руковод. для врачей. - СПб.-В. Новгород, 2004. - 76 с.
15. Айзятупов Р.Ф. Современные аспекты комплексной терапии инфекций, передающихся половым путем: Метод. рекомен. для врачей дерматовенерологов, акушеров-гинекологов, урологов. - Донецк, 2003. - С. 2-10.
16. Кількісна оцінка ураження епітелію при

- урогенітальній хламідійній інфекції за допомогою методу прямої імуофлуоресценції / П.В. Федорич, В.Г. Коляденко, Г.А. Михальчук та ін. // Дерматологія та венерологія. – 2002. – № 1 (15). – С. 33-34.
17. *Кутова В.В., Щоголева О.В., Гончаренко В.В.* Роль серологічних методів дослідження у діагностиці хламідійних уражень у дітей // Дерматологія та венерологія. – 2005. – № 2 (28). – С. 60-63.
 18. *Comparative diagnostic value of immunofluorescent, PCR and dot-ELISA tests in detection of urogenital Chlamydia agent / V. Feodorova, V. Bannikova, Y. Eliseev, V. Grashkin / Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 188.*
 19. *Мавров Г.І., Чінов Г.П.* Персистентна хламідійна інфекція: визначення поняття та наукове і практичне значення // Інфекційні хвороби. – 2003. – № 4. – С. 62-67.
 20. *Raavonen J., Eggert-Kruse.* Chlamydia trachomatis: влияние на репродуктивную функцию человека // Репродуктивное здоровье женщины. – 2005. – № 2 (22). – С. 157-160.
 21. *Маврова Д.И.* Актуальные проблемы хламидийных инфекций у детей и подростков // Дерматологія та венерологія. – 2004. – № 2 (24). – С. 94-98.
 22. *Дмитриев Г.А.* Качество лабораторной диагностики инфекций, передающихся половым путем // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2008. – № 5 (14). – С. 66-70.
 23. *Степаненко В.І., Шеремета В.В.* Рациональна діагностика уrogenітального хламідіозу з урахуванням персистенції збудників та латентного клінічного перебігу інфекції // Український журнал дерматології, венерології, косметології. – 2004. – № 1. – С. 93.
 24. *Кутовая В.В.* Методологические подходы к диагностике хламидиоза у взрослых и детей // Дерматологія та венерологія. – 2008. – № 4 (42). – С. 85-89.
 25. *Mardh P.-A., Strevens H.* Potential and actual dilemmas in diagnosing genital infections by Chlamydia trachomatis // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 3-8.
 26. *Stary A.* Modern Chlamydia diagnosis: Can it still be improved? // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 13-14.
 27. *Determination of chlamydia trachomatis infections in pregnant women by means of tagman PCR / J. Deak, Z. Kozinszky, T. Sari et al // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 193-194.*
 28. *Ostergaard C., Moller J.* Is first-void urine sampling improving the detection of Chlamydia trachomatis in males? // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 9.
 29. *Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from MSM for the detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by NAATs / J. Schachter, J. Moncada, L. Rauch et al // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 24-25.*
 30. *An evaluation of self-collected penile swabs for detection of chlamydia trachomatis / B. de Barbeyrac, I. Le Hen, S. Raheison et al // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 190.*
 31. *Inhibition of Chlamydia trachomatis SDA in self-sampling specimens resolved by alternative specimen processing / L. Esmee, L. Ad, J. Maaskant et al // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P.201.*
 32. *Development of a specific PCR for detection of the new variant strain of Chlamydia trachomatis and surveillance in the United States / C. Gaydos, A. Hardick, P. Ramachandran et al // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 260.*
 33. *Population prevalence of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in the Netherlands. Should asymptomatic persons be tested during Population-based chlamydia Screening also for gonorrhoea or only if chlamydia infection is found? / J. E. A. M. van Bergen, J. Spaargaren, H.M. Gotz et al // BMC Infectious Diseases. – 2006. – <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/6/42>*
 34. *Prevalence of Neisseria gonorrhoeae among men screened for Chlamydia trachomatis in four United States cities, 1999-2003 / C.A. Gaydos, C.K. Kent et al // Sexually Transmitted Diseases. – 2006. – Vol. 33, No 5. – P. 314-319.*
 35. *A dry glans-meatis swab is a convenient alternative specimen for the detection of Chlamydia trachomatis (CT) and Neisseria*

- Gonorrhoeae (NG) in men / L. Esmee, L. Ad, M. Judith *et al* // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 26.
36. *High performance and acceptability of self-collected anal swabs for diagnosis of chlamydia trachomatis and neisseria gonorrhoeae in men and women* / E. Brouwers, J. van der Helm, M. van Rooijen *et al* // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P.185-186.
37. *How many MSM with chlamydial and gonococcal infections are missed if only urine specimens are screened* / J. Moncada, J. Schachter, L. Rauch *et al* // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P.187.
38. *Chernesky M.A. Chlamydia trachomatis diagnostics* // Sexually Transmitted Infections. – 2002. – No 78. – P. 232-234.
39. *Bjartling C., Johnsson A., Persson K. Epidemiology and clinical observations of new variant Chlamydia trachomatis infection* // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 41.
40. *Persson K. Epidemiological development in southern Sweden of the new variant of C. trachomatis with a deletion in the plasmid* // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 247.
41. *Results of investigation to assess the presence of chlamydia trachomatis Swedish variant in France* / S. Raheison, M. Clerc, S. Trombert *et al* // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 252.
42. *What about the presence of the Swedish Chlamydia trachomatis variant in TUNISIA?* / O. Frikha-Gargouri, A. Znazen, S. Hadrich *et al* // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 262.
43. *Руководство по ведению пациентов с генитальной инфекцией, ассоциированной с Chlamydia trachomatis. Шотландское меж-университетское сообщество по разработке руководств, 2009* // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2009. – № 3 (20). – С. 35-38.
44. *Evaluation of the new Cobas Tagman CT test v2.0 for the real-time PCR detection of chlamydia trachomatis* / S. Raheison, G. Kreplack, M. Clerc, C. Bebear // Proceedings Sixth meeting of the European society for Chlamydia research. – Aarhus (Denmark), 2008. – P. 191.