

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

ХЛІАМІДІЇ

***Методичні вказівки
з дисципліни
"Мікробіологія, вірусологія та імунологія
з мікробіологічною діагностикою"
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю
"Технології медичної діагностики та лікування"***

Затверджено
вченою радою ХНМУ.
Протокол № 9 від 21.09.2017.

**Харків
ХНМУ
2017**

Хламідії : метод. вказ. з дисципліни "Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою" для студентів-бакалаврів II–IV курсу за спеціальністю "Технології медичної діагностики та лікування" / упоряд. М. М. Мішина, Т. М. Замазій, Н. І. Коваленко. – Харків : ХНМУ, 2017. – 60 с.

Упорядники М. М. Мішина
 Т. М. Замазій
 Н. І. Коваленко

Тема: Лабораторна діагностика хламідіозів

Кількість годин: 2.

Обґрунтування теми. За різними оцінками, хламідіями інфіковано від 1,5 до 60 % населення Земної кулі, а антитіла до них мають від декількох відсотків до $\frac{3}{4}$ популяції. Такий розклад пояснюється, в основному, різною методологією оцінювання й свідчить про недосконалість багатьох сучасних діагностиків та неповноту наших знань про серологічні та імунологічні властивості цих небезпечних мікроорганізмів. Але як би там не було, хламідіоз – одне з найбільш поширених сучасних захворювань.

Широкий спектр клініко-епідеміологічних проявів хламідіозів визначається екологічними особливостями збудників захворювань – хламідій різних видів, своєрідністю їхньої взаємодії з клітиною хазяїна, реакцією макроорганізму, а також різними шляхами передачі інфекції, які реалізуються в процесі циркуляції хламідій у природі.

Зоонозні та антропонозні хламідіози є серйозною проблемою національних служб охорони здоров'я внаслідок їх глобального розповсюдження, негативного впливу на здоров'я населення та економіку народного господарства при відсутності діючої системи профілактики.

Одним із найбільш поширених зоонозних хламідіозів є орнітоз – природно-вогнищева інфекція, при якій величезним неконтрольованим резервуаром збудника в природі є численні види диких птахів.

За останньою класифікацією орнітоз віднесений до найважливіших природно-антропургічних зоонозів. Природна осередкованість орнітозу встановлена ще в 60-ті роки минулого сторіччя, але до сьогодні недостатньо вивчені фактори активності, стійкості природних осередків орнітозу, умови їхнього формування та тривалого функціонування, роль в епізоотичному та епідемічному процесі.

У сучасних умовах загрози біотероризму важливість вивчення зазначеної проблеми полягає також у тому, що збудник зоонозних хламідіозів *Chlamydomphila psittaci* (*C. psittaci*) може бути використаний як потенційний агент біологічної зброї.

Українською складною проблемою для органів охорони здоров'я в теперішній час є антропонозні хламідіози. Стало вочевидь, що хламідії видів *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) та *Chlamydomphila pneumoniae* (*C. pneumoniae*) можуть інфікувати різні органи та тканини людей, обумовлюючи системні захворювання з ураженням уrogenітальної, дихальної, серцево-судинної, нервової систем, органу зору, суглобів.

Уrogenітальний хламідіоз (УГХ), спричинений *C. trachomatis*, визнаний найбільш розповсюдженим серед захворювань, що передаються статевим шляхом, зустрічається в 1,7 та 7,4 разів частіше, ніж гонорея та сифіліс відповідно. Практично неконтрольоване розповсюдження УГХ

обумовлено високим ступенем інфікування при статевих контактах, непатономонічністю симптоматики, складністю діагностики і терапії (особливо персистуючих форм), відсутністю системи профілактики.

В Україні в останні роки різко збільшилась кількість вперше зареєстрованих випадків хламідіозу (серед чоловіків – на 56 %, серед жінок – на 77 %), при цьому особливо висока захворюваність відзначена у жінок віком 15–19 років.

Проблема хламідіозів має не тільки медичне, а й соціально-економічне значення. Успішна організація боротьби з цими захворюваннями можлива лише за умови їх своєчасного і повного виявлення, а це, з огляду на відсутність патогномонічної симптоматики, являє значні труднощі. У зв'язку з цим вирішальне значення в постановці діагнозу набувають методи лабораторної діагностики.

Мета:

– загальна: оволодіти мікробіологічною діагностикою хвороб, спричинених хламідіями;

– конкретна:

а) знати:

– правила безпеки при роботі з біологічним матеріалом (Державні санітарні правила – ДСП 9.9.5.03599).

б) вміти:

1. Підготувати робоче місце.
2. Дотримуватися правил роботи і техніки безпеки з інфікованим матеріалом, культурами мікроорганізмів, апаратурою.

3. Відбирати та транспортувати матеріал для дослідження при підозрі на інфекцію, обумовлену хламідіями.

4. Готувати матеріал, який надійшов від хворого з підозрою на хламідіоз.

5. Досліджувати матеріал за допомогою методів, призначених для виявлення хламідій.

6. Давати оцінку результатам дослідження та заповнювати відповідну лабораторну документацію.

Матеріальне та методичне забезпечення теми: музейні мікропрепарати, бланки направлень, мікроскоп, імерсійне масло, дезінфікуючий розчин, таблиці, атлас.

Зміст заняття

Хламідіози – група інфекційних хвороб людини і тварин, які викликаються патогенними облігатними внутрішньоклітинними мікроорганізмами роду *Chlamydia*, що характеризуються множинними механізмами і шляхами передачі, різноманітними клінічними проявами, та мають повсюдне (орнітоз, пневмохламідіоз, сечостатевий хламідіоз, паратрахома та ін.) або переважно ендемічне (трахома, лімфогранульома) поширення.

Хламідії були вперше виявлені С. Провачеком у 1907 році, який дав їм назву "chlamydozoa" у зв'язку з тим, що вони утворюють внутрішньоклітинні мікроколонії, оточені мантією – "хламідією" (від грец. *chlamus* – плащ).

Хламідії й споріднені з ними мікроорганізми, що належать до порядку *Chlamydiales*, є облігатними внутрішньоклітинними паразитами людини і тварин. Це своєрідна таксономічна група патогенних мікроорганізмів, що володіють подібними антигенними, морфологічними, біохімічними характеристиками. Хламідії вільно не існують поза клітин організму господаря, тому що не здатні до самостійного синтезу АТФ і використовують біоенергетичні системи клітин макроорганізму. Нормальний розвиток хламідій можливий тільки в умовах внутрішньоклітинного паразитування. Хламідії розмножуються бінарним поділом.

Відповідно до сучасних підходів до геносистематики для опису бактеріальних таксонів на рівні видів, родів і сімейств класифікація хламідій і хламідієподібних мікроорганізмів заснована на наявності > 95 % гомології в нуклеотидній послідовності генів 16S і 23S рРНК для всіх представників роду і > 90 % – родини. Таким чином, раніше некласифіковані мікроорганізми, що мають схожий із хламідіями цикл розвитку, були виділені в чотири додаткові родини в складі порядку *Chlamydiales* – *Chlamydiaceae*, *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Waddliaceae* (табл. 1). Питання щодо того, щоб порядок *Chlamydiales* розглядався як клас, і нині залишається відкритим. Це пов'язано з невеликою кількістю видів хламідій, які віднесені до порядку *Chlamydiales*.

Найбільш радикальні зміни відбулися в систематиці родини *Chlamydiaceae*, в якій у даний час виділено два роди – *Chlamydia* і *Chlamydophila*. Вони розрізняються між собою ще й за рядом фенотипових ознак.

Таблиця 1

Класифікація хламідій

Порядок Chlamydiales				
Родина Chlamydiaceae		Родина Parachlamydiaceae	Родина Simkaniaceae	Родина Waddliaceae
Рід Chlamydia	Рід Chlamydophila	Рід Parachlamydia	Рід Simkania	Рід Waddlia
<i>C.muridarum</i> <i>C.trachomatis</i> <i>C.suis</i>	<i>C.abortus</i> <i>C.felis</i> <i>C.caviae</i> <i>C.pecorum</i> <i>C.pneumoniae</i> <i>C.psittaci</i>	<i>P.acanthamoebae</i>	<i>S.negevensis</i>	<i>W.chondrophila</i>

Представники роду *Chlamydia* володіють схожими за структурою екстрахромосомними елементами. Вони здатні накопичувати глікоген у включеннях. Їх елементарні тільця (ЕТ), потрапивши в клітину організму-

господаря, прагнуть злитися в одне спільне велике включення, біологічний сенс якого полягає в обміні генетичною інформацією, а це, у свою чергу, обумовлює велику генетичну варіабельність збудника. Рід *Chlamydia* включає три види: давно відомий – *Chlamydia trachomatis* і два нових – *Chlamydia muridarum* і *Chlamydia suis*. Згідно з новою класифікацією *C. trachomatis* є виключно паразитом людини. Вид *C. trachomatis* об'єднує мікроорганізми, що викликають захворювання, головним чином у людини (антропонозний хламідіоз). Патогенні для людини *C. trachomatis* розділені на 3 біовари – збудники венеричної лімфогранульоми, збудники гіперендемичної трахоми, збудники спорадичних захворювань очей (паратрахома, кон'юнктивіт із включеннями у новонароджених і дорослих) і урогенітального хламідіозу (негонококовий уретрит – НГУ), цервіцит, сальпінгіт, проктит, простатит, епідидиміт, пневмонія новонароджених).

Вид *C. muridarum* до недавнього часу розглядався як третій біовар *C. trachomatis*. *C. muridarum* викликає захворювання у гризунів родини Muridae. Два штами цього роду виділені у мишей і хом'яків. *C. suis* вперше була виділена у свині (*Sus scrofa*).

Представники роду *Chlamydophila* проявляють еволюційну спорідненість за структурою різних генів, включаючи гени рибосомного оперона і білків зовнішньої мембрани (OMP і OMP2). Рід *Chlamydophila* включає в себе давно відомі види – *Chlamydophila psittaci*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila pecorum*, *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila caviae* і *Chlamydophila felis*.

C. pecorum – збудник захворювань тварин. *C. pneumoniae* – збудник респіраторних інфекцій у тварин і людини. Цей вид має три біовари: TWAR, коала (Koala) і кінський (Equine). Незалежно від того, де паразитують штами *C. pneumoniae*, у тварин або у людини, всі вони мають подібні генетичні та антигенні характеристики. Штами TWAR є збудниками захворювань респіраторного тракту в людини. Вони здатні викликати переважно гострі або хронічні бронхіти і пневмонії.

Вид *C. psittaci* включає штами, які здатні викликати захворювання тільки у птахів. Всі ці штами можуть передаватися людині й викликати пситакоз. *C. abortus* викликають захворювання у тварин. *C. felis* викликає риніти і кон'юнктивіти у домашніх кішок. *C. caviae* вперше була виділена з кон'юнктиви морської свинки. У лабораторних умовах було показано, що цей мікроорганізм може викликати у морських свинок інфекції статевих органів, подібні за своїми проявам з аналогічно захворюванням у людини.

Представники родини *Parachlamydiaceae* добре ростуть на культурі клітин Vero, варіабельно фарбуються за Грамом, розпізнаються моноклональними антитілами, специфічними для антигенного комплексу ЛПС сімейства *Chlamydiaceae* і є паразитами амеб. Відмінності в нуклеотидній послідовності генів *Parachlamydiaceae* і *Chlamydiaceae* в цілому складає

10–20 %. До складу родини входить один рід, єдиним представником якого є *Parachlamydia acanthamoebae*.

У даний час родина *Simkaniaceae* включає один рід *Simkania*, який представлений єдиним видом і штамом – *Simkania negevensis*. Природний господар сімканій досі невідомий. Однак дані серологічних методів дослідження і ПЛР-аналізу свідчать, що цей мікроорганізм широко поширений у людей. *S. negevensis* не розпізнається моноклональними антитілами, специфічними для антигенного комплексу ЛПС родини *Chlamydiaceae*.

Єдиним представником родини *Waddliaceae* є вид *Waddlia chondrophila* (штам WSU 86-1044). Нуклеотидна послідовність 16S рДНК штаму WSU 86-1044 проявляє 84,7–85,3 % гомології з відповідними представниками генів різних хламідійних штамів.

Виходячи з того, що види родини *Chlamydiaceae* розрізняються між собою лише відмінностями в нуклеотидній послідовності деяких генів (16S і 23S рРНК), на чому, власне, і ґрунтується таксономія, стає очевидним, що правильна діагностика збудника хламідійної інфекції можлива лише при використанні методів, заснованих на виявленні генома збудника.

Морфологічні та тинкторіальні властивості. Хламідії – це дрібні бактерії, кулястої або овальної форми, мають дві нуклеїнові кислоти, не утворюють спору і капсулу, нерухливі, грамнегативні. Розмножуються шляхом поділу впоперек; здатні перетворюватися на L-форму.

Оболонка хламідій складається із внутрішньої цитоплазматичної і поверхневої мембран, кожна з яких має подвійну структуру, що забезпечує її міцність (*рис. 1*). Від інших бактерій вони відрізняються відсутністю в складі клітинної стінки типового для бактерій пептидоглікану.

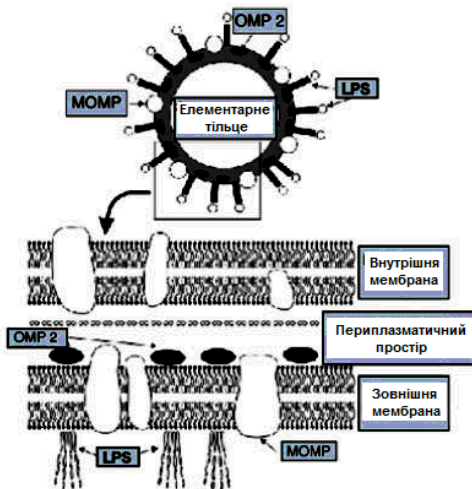


Рис. 1. Структура клітинної стінки *C. trachomatis*

Хламідії – облигатні внутрішньоклітинні паразити, що відрізняються від інших мікроорганізмів унікальним життєвим циклом, який включає в себе послідовну зміну двох високоспеціалізованих форм, адаптованих для внутрішньо- і позаклітинного існування. Позаклітинні форми – інфекційні метаболічно неактивні елементарні тільця (ЕТ) діаметром 0,2–0,3 мкм, оточені ригідною малопроникною клітинною стінкою, містять щільний нуклеоїд і зневоднений протопласт, що забезпечує резистентність до факторів зовнішнього середовища при перенесенні від клітини до клітини і від господаря до господаря. ЕТ стійкі до дії антимікробних препаратів. Клітинна стінка ЕТ має характерну для грамнегативних бактерій будову. Ригідність клітинної стінки обумовлена наявністю множинних дисульфідних поперечних зв'язків між багатими на цистеїн білками. Ці білки важливі для забезпечення стабільності й непроникності ЕТ. Ретикулярні тільця (РТ) (діаметром до 1 мкм) – вегетативні внутрішньоклітинні форми, з вираженою метаболічною активністю і здатністю до поділу та розмноження (рис. 2).

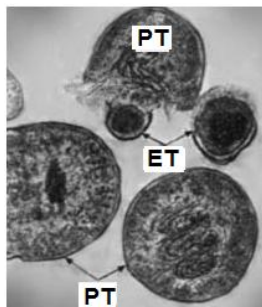


Рис. 2. Елементарні (ЕТ) та ретикулярні (РТ) тільця *C. trachomatis*

Життєвий цикл хламідій. Хламідій відрізняє від інших збудників інфекційних захворювань унікальний життєвий цикл, який істотно відрізняється від життєвого циклу бактерій сукупністю двох фаз – внутрішньоклітинного розвитку і позаклітинного існування.

У результаті численних досліджень було встановлено, що цикл розвитку всіх хламідій має подібний характер. Життєвий цикл хламідій представлений двома клітинними формами, здатними існувати як всередині, так і позаклітинно: високоінфекційними, високовірулентними, позаклітинними, що не проявляють метаболічної активності елементарними тільцями, які мають кулясту форму, і вегетативною формою – репродуктивними внутрішньоклітинними ретикулярними тільцями, які можуть мати форму овоїду, півмісяця, біполярних паличок, кокобацил.

Носієм видових ознак хламідій служать елементарні тільця. Вони не мають аналогів серед бактерій.

Життєвий цикл хламідій починається з інфікування елементарними тільцями чутливих клітин господаря за допомогою так званого процесу піноцитозу (фагоцитозу) (рис. 3).

Таким чином, перший ступінь інфекційного процесу – прикріплення метаболічно неактивної, але інфекційної форми хламідій – елементарного тільця до клітини господаря. Зазвичай це клітини безвікового циліндричного або кубічного епітелію слизових оболонок (кон'юнктива, уретра, ендодерміс, ендометрій, маткові труби), епітеліальні клітини різних органів, клітини ретикулоендотелію, лейкоцити, моноцити і макрофаги. Після

прикріплення елементарне тільце фагоцитується (проникає в клітину-господаря). Усередині клітини елементарне тільце хламідій існує в цитоплазматичній вакуолі – фагосомі, де хламідії залишаються весь цикл росту, утворюючи своєрідні мікроколонії. Для свого розмноження, росту і розвитку хламідії використовують клітинну АТФ (енергію), а захищаються від руйнування оболонкою цитоплазматичної вакуолі, так званої фагосомної мембрани. У клітині може одночасно перебувати кілька елементарних тілець, тобто в цитоплазмі клітин може виявитися кілька мікроколоній хламідій.

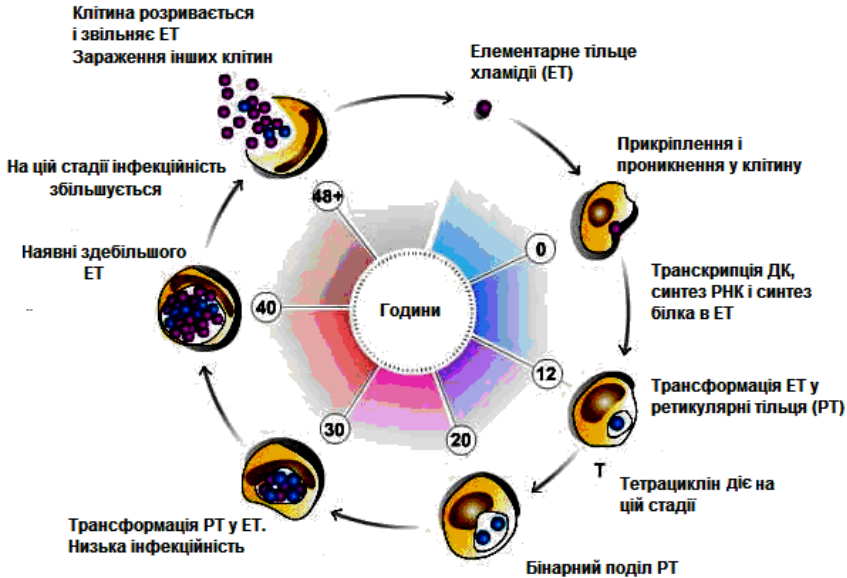


Рис. 3. Життєвий цикл хламідій

У вакуолі елементарне тільце трансформується в ретикулярне (ініціальне): після 6–8 год розвитку елементарні тільця хламідій через проміжні тільця перетворюються на сітчасті тільця (ретикулярні, ініціальні), які в три рази більше елементарних тілець і мають виражену метаболічну активність. Ретикулярні тільця хламідій також не утворюють своєї енергії і живуть за рахунок клітини господаря. Здатністю до інфікування ретикулярні тільця не володіють, не можуть вони вижити і поза клітини-хазяїна. Багаті на нуклеїнові кислоти ретикулярні тільця після спеціального фарбування забарвлюються приблизно так само, як клітинні ядра, але від останніх відрізняються меншими розмірами і множинністю – до сотні на одну епітеліальну клітину (рис. 4). Подібно до інших бактерій ретикулярні тільця піддаються поділу. Вони діляться від 8 до 24 год залежно від умов. Ретикулярні тільця діляться бінарно (по два) всього 8–12 циклів ділення,

причому деякі з дочірніх ретикулярних тілець починають зменшуватися в розмірах, конденсуються, ущільнюються, перетворюються на проміжні тільця і далі трансформуються в нові елементарні тільця другого покоління. Новостворені елементарні тільця хламідій заповнюють клітину.



Рис. 4. Клітини епітелію. Фарбування за Романовським–Гімзою: синіми стрілками зображені "здорові" клітини, червоними – уражені хламідіями, в яких розмножуються РТ (одне з них всередині червоного кола) і ЕТ

На завершення всередині цитоплазматичної колонії формується мікроколонія хламідій – так зване хламідійне включення, що складається з ретикулярних і елементарних тілець (рис. 5). Ця мікроколонія через 24–72 год досягає розмірів лейкоцита і добре помітна в оптичному мікроскопі. Через 48–72 год мікроколонія розриває оболонку клітини, у результаті чого в позаклітинний простір виходить

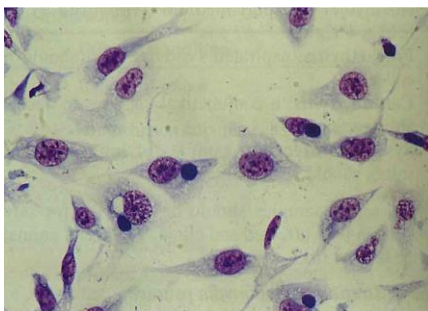


Рис. 5. Включення *C. trachomatis*. Фарбування за Романовським–Гімзою

кілька сотень новостворених елементарних і ретикулярних тілець хламідій. Вивільнені елементарні тільця хламідій знаходяться позаклітинною, через 48–72 год нові елементарні тільця знову фагоцитуються чутливими клітинами і інфікування прогресує. Так закінчується життєвий цикл хламідій і починається новий цикл – інфікування нової клітини з перетворенням елементарних тілець у ретикулярні, здатні до розмноження.

Кожен цикл розмноження хламідій триває в середньому від 48 до 72 год. Однак під впливом ряду факторів, таких, як дефіцит поживних речовин, низький рівень γ -інтерферону, вплив теплового шоку на інфіковані клітини, неадекватна терапія, цикл може затримуватися в репродуктивній фазі на невизначений період – від кількох днів до місяців.

Цитоплазматичні вclusions, що містять хламідії, виявляються при світловій, люмінесцентній і фазово-контрастній мікроскопії (рис. 6). З огляду на внутрішньоклітинне розташування паразитів, їх легше виявляти в препаратах, забарвлених за Романовським–Гімзою. Тинкторіальні властивості хламідій і форма їх клітин відрізняються залежно від фази циклу розвитку. Елементарні тільця фарбуються у фіолетово-червоний колір, ретикулярні – в синій (рис. 7).

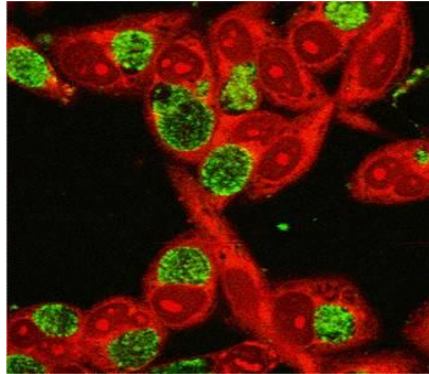
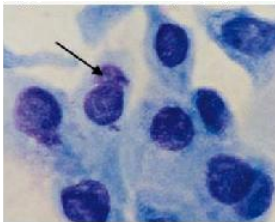
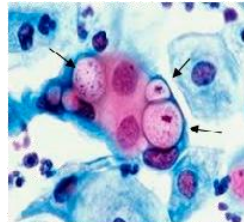


Рис. 6. Виявлення хламідій при люмінесцентній мікроскопії



А



Б

Рис. 7. Ретикулярні (А) та елементарні (Б) тільця *C. trachomatis*. Фарбування за Романовським–Гімзою

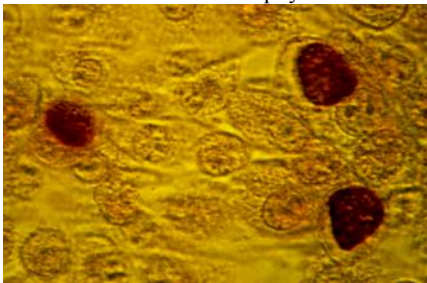


Рис. 8. Виявлення глікогену у вclusions *C. trachomatis*. Фарбування розчином Люголя

Під вclusions, утвореними *C. trachomatis*, через 30–60 год після інфікування накопичується глікоген, досягаючи рівня, що візуалізує вclusions при фарбуванні йодом, що є критерієм при диференційній діагностиці *C. trachomatis* і *C. psittaci* (рис. 8).

Хламідії здатні трансформуватися в L-форму. При цьому відбувається зміна антигенних властивостей поверхневих структур і цитоплазматичної мембрани, що дозволяє збуднику вислизати від специфічних антитіл, раніше напрацьованих імунною системою. Така трансформація можлива при використанні антибактеріальних препаратів з антихламідійною активністю в малих або недостатніх дозах. Також установлено, що у виникненні персистенції хламідій важливу роль відіграють інертні щодо хламідій антибіотики (наприклад, групи пеніциліну), сульфаніаміди,

дисбактеріоз кишечника і особливості факторів імунного захисту.

Культивування. Облігатний внутрішньоклітинний паразитизм хламідій обумовлений нездатністю самостійно синтезувати високоенергетичні сполуки, і пов'язаний з потребою в молекулах АТФ клітини-господаря. Як внутрішньоклітинні паразити хламідії розмножуються в жовтковому міхурі курячих ембріонів (6–7-денні) за температури 33–41 °С (залежно від виду) (розмножуються в епітеліальних клітинах ворсинок жовткової оболонки з подальшою генералізацією інфекції і загибеллю ембріона на 5–8-у добу після ураження), у культурах клітин різних хребетних тварин, а також в організмі чутливих тварин (у легенях мишей, морських свинок, у кон'юнктиві приматів). У цитоплазмі однієї еукаріотної клітини може утворитися одна або кілька мікроколоній.

Антигенні властивості. Хламідії володіють складною антигенною структурою, вони мають загальний родоспецифічний антиген – термостабільний ліпополісахарид (ЛПС), який локалізується в клітинній стінці.

Хламідійний ЛПС містить родоспецифічні епітопи, антитіла до яких залишаються основним компонентом при діагностиці хламідійних антитіл і антигенів у більшості тест-систем, які використовуються в лабораторіях. ЛПС є єдиним хламідійним компонентом, який можливо визначити на поверхні інфікованої клітини. У процесі активного розмноження хламідій можливий надлишковий синтез ЛПС і виділення його в кровообіг. Циркулюючі ЛПС здатні неспецифічно індукувати продукцію цитокинів, що може привести до дисбалансу імунної системи і хронізації інфекції.

Видоспецифічні і типоспецифічні антигени є білковими термолабільними фракціями. Видоспецифічний антиген визначає належність до відповідного виду, а типоспецифічні антигени дозволяють диференціювати різні серотипи хламідій всередині виду (*табл. 2*). *C. trachomatis* має 18 сероварів, які позначають великими літерами латинської абетки. Серовари *C. trachomatis* від А до С викликають класичне захворювання очей – трахоми, серовари від D до K викликають уrogenітальну інфекцію і ураження очей, а серовари L1, L2 і L3 – більш інвазивні форми інфекції, що передається статевим шляхом, – венеричну лімфогранульому з характерним ураженням лімфатичних вузлів. Еталоном серотипування є використання моноклональних антитіл, однак через значну трудомісткість цей метод витісняється молекулярним, заснованим на секвенуванні гена *omp1*, що кодує вказаний білок. На підставі результатів порівняльної серологічної оцінки перехресної реактивності різних штамів *C. psittaci* можна припустити існування в складі цього виду не менше 13 сероварів.

Таблиця 2

Антигенна характеристика хламідій

Види	Серовари	Захворювання
<i>Chlamydia trachomatis</i>	A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2, L2a, L3	Трахома, паратрахома урогенітальний хламідіоз, пневмонія; венерична лімфогранульома
<i>Chlamydophila psittaci</i>	13	Орнітоз, кератокон'юнктивіт, абортів овець
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	TWAR, IOL-207, KA, CWL	Пневмонія, ГРЗ, атеросклероз, саркоїдоз, астма

Стійкість до факторів зовнішнього середовища. Поза організмом людини (тварини) при кімнатній температурі хламідії гинуть через 24–36 год, однак деякі види (наприклад, *C. psittaci*) здатні зберігатися у зовнішньому середовищі до 2–3 тиж. Хламідії чутливі до дії високих температур (при температурі 90–100 °С гинуть протягом 1 хв, при 60–70 °С – 10 хв, при 50 °С – 30 хв.), ультрафіолетових променів, антисептиків і дезінфектантів (70 % спирт, 6 % перекис водню, 2 % розчин хлораміну).

У навколишньому середовищу хламідії досить швидко гинуть під впливом висушування і підвищених температур.

При низьких значеннях температури (від –20 до –70 °С) у ліофілізованому стані хламідії зберігають контагіозність роками.

Веgetативні форми чутливі до дії антибіотиків, які пригнічують на рівні рибосом синтез бактеріальних білків (макроліди, тетрациклін).

Фактори патогенності. Всі виявлені хламідії патогенні, їх немає серед представників нормальної мікрофлори людини. До факторів патогенності відносять фактори адгезії (хламідії проявляють тропізм до клітин циліндричного епітелію), антигени поверхневої мембрани, ендотоксин, екзотоксин. Адгезивна здатність хламідій обумовлена наявністю на поверхні клітинної оболонки термолабільних рецепторів, структурно пов'язаних із типоспецифічними антигенами. Цим пояснюється тропізм певних сероварів *C. trachomatis* до тих чи інших тканин. Залишається нерозкритим механізм блокування хламідіями злиття фагосом з лізосомами, що не дає змоги клітинам завершити фагоцитоз і забезпечує хламідіям можливість внутрішньоклітинного розмноження. Припускають, що такий вплив чинять поверхневі родоспецифічні антигени паразитів. Ліпополісахариди клітинних оболонок хламідій і грамнегативних бактерій у цілому, мають властивості ендотоксинів. У всіх видів патогенних для людей хламідій виявлено здатність продукувати термолабільні екзотоксини, що викликають загибель мишей при введенні в судинне русло.

Інвазивність хламідій пов'язують з будовою вуглеводної частини головного ліпополісахариду їх зовнішньої мембрани, а саме із залишками манози в олігосахаридах, пов'язаних з основним білком зовнішньої мем-

брани (a major outer membrane protein – МОМР) хламідій, які опосередковують прикріплення хламідій до клітин. Присутність МОМР асоційована з хронічним сальпінгітом і з трубною оклюзією. Виявлені сперміцидні властивості ліпополісахариду клітинної стінки хламідій для сперматозоїдів.

У складі хламідій є так званий білок теплового шоку (БТШ). Персистуючі форми хламідій здатні утворювати високоімуногенний БТШ з молекулярною масою 60 кД. За антигенним складом хламідійний БТШ гомологічний до БТШ людини. Протихламідійні антитіла, які утворюються в організмі господаря, одночасно є аутоантитілами до власного БТШ-60. Це один із перших білків, які синтезуються в організмі жінки епітеліальними клітинами decidua basalis після запліднення. На ранніх стадіях вагітності у жінки з хронічною хламідійною інфекцією експресія БТШ-60 може реактивувати лімфоцити, сенсibilізовані хламідійним БТШ-60, що призведе до відторгнення ембріона. Цей механізм, а також порушення трубної прохідності є основними в патогенезі жіночого безпліддя при хламідійній інфекції. Також є дані про вплив *C. trachomatis* на функцію яєчників, зокрема на функціонування жовтого тіла, що може в певних випадках бути причиною переривання вагітності на ранніх термінах.

Епідеміологічна характеристика хламідіозів. Хламідії здебільшого уражають людей, птахів і ссавців. Нині відомо понад 20 нозологічних форм, асоційованих з хламідійною інфекцією.

Резервуар і джерело інфекції. Хламідії і споріднені з ними мікроорганізми, що належать до порядку *Chlamydiales*, досить широко розповсюджені в природі. Крім людини, вони виявлені ще більш ніж у 200 видів тварин і птахів, у деяких риб, моллюсків, членистоногих і вищих рослин.

C. trachomatis є виключно паразитом людини. Серед штамів цього мікроорганізму переважають такі, які здатні при інфікуванні викликати трахому, уrogenітальні захворювання, синовіти і артрити, а також кон'юнктивіти, вульвовагініти, проктити і пневмонії у новонароджених.

Трахома, згідно з останніми даними ВООЗ, призвела до розвитку сліпоти у 6 млн жителів планети. Крім того, *C. trachomatis* вважається найбільш поширеним бактеріальним патогеном, який передається статевим шляхом. Щорічно в світі реєструється близько 90 млн. нових випадків захворювань, що передаються статевим шляхом (ЗПСШ), викликаних *C. trachomatis*.

C. muridarum є збудником захворювань гризунів сімейства Muridae. Два штами цього роду виділені у мишей і хом'яків.

C. suis вперше була виявлена у свиней. Різні штами цього мікроорганізму викликають кон'юнктивіти, ентерит і пневмонію у тварин і характеризуються підвищеною резистентністю до сульфадіазину і тетрацикліну.

C. pneumoniae є збудником респіраторних захворювань у людей. Провідна форма захворювання – дрібно вогнищева, або інтерстиціальна пневмонія. Штами TWAR цього виду в основному є збудниками захворю-

вань респіраторного тракту у людини, викликаючи переважно гострі й хронічні бронхіти і пневмонії. В останні роки йде активне накопичення даних про участь *S. pneumoniae* в етіопатогенезі ішемічної хвороби серця, атеросклерозу, саркоїдозу, бронхіальної астми, васкулітів, ендокардиту.

При проведенні сероепідеміологічних досліджень антитіла до *S. pneumoniae* були виявлені більше ніж у 60 % дорослого населення Земної кулі. Інфікування може відбуватися вже в порівняно ранньому віці, коли захворювання частіше протікає безсимптомно. У віковій групі 5–20 років частка серопозитивних осіб становить приблизно 30 %. У подальшому цей показник повільно зростає, досягаючи 50–75 %. Такий високий рівень серопозитивності свідчить про можливість повторного зараження *S. pneumoniae*, а також про наявність персистуючої інфекції. Цікаво, що антитіла до *S. pneumoniae* частіше виявляють у чоловіків, ніж у жінок.

S. psittaci налічує штамми, для яких основними господарями є птахи. Всі вони можуть передаватися людині, обумовлюючи пситтакоз. Хламідіози, викликані цим збудником, більше поширені серед сільських жителів, часто мають професійний характер.

S. pecorum є виключно збудником захворювань тварин, викликаючи пневмонії, поліартрити, енцефаломієліти, діарею та аборти.

S. abortus отримала назву за основним симптомом, що викликається цим збудником. Даний вид мікроорганізмів поширений серед жуйних тварин і в основному колонізує плаценту. Спорадичні аборти, які були викликані *S. abortus*, спостерігалися у жінок, які працювали з вівцями (гестаційний пситтакоз).

S. caviae вперше виділена з кон'юнктиви гвінейської свині і згодом описана у декількох різновидів цих тварин.

S. felis викликає риніти і кон'юнктивіти у домашніх кішок. При інфікуванні людей іноді спостерігалися захворювання, для клінічної картини яких були характерні кон'юнктивіти.

Основи патогенезу хламідіозів. Хламідії характеризуються епітеліотропністю, тому здатні уражати епітелій різних органів. Масове розмноження хламідій в епітеліальних клітинах призводить до руйнування шару епітелію й утворенню виразок, які загоюються з утворенням рубців і спайок. Рубцеві зміни рогівки при трахомі призводять до сліпоты, запалення органів малого таза при уrogenітальному хламідіозі викликає безпліддя.

Після загибелі великої кількості епітеліальних клітин збудник може потрапляти в кров, паренхіматозні органи і фіксуватися в лімфоїдній тканині. Це характерно для венеричного лімфогранульоматозу й орнітозу. Крім того, багато видів хламідій здатні до латентного існування або персистенції в організмі господаря, обумовлюючи імунну й алергічну перебудову організму, як, наприклад, при синдромі Рейтера.

Клінічні прояви. У даний час налічується більше 20 нозологічних форм, пов'язаних зі хламідійною інфекцією. Окремі клінічні форми будуть розглянути нижче.

Урогенітальний хламідіоз, збудником якого є *C. trachomatis*, має різноманітні клінічні прояви. Особливістю перебігу урогенітальної хламідійної інфекції є відсутність будь-яких специфічних проявів і відсутність вираженої клінічної симптоматики з моменту інфікування.

Захворювання, як правило, протікає мало- або асимптомно, що обумовлено своєрідністю біології *C. trachomatis* – унікальністю їх життєвого циклу і взаємодії з клітинами макроорганізму. Маніфестні форми захворювання реєструються тільки в тому випадку, коли має місце асоційована інфекція, при цьому саме асоціант обумовлює розвиток клінічної картини інфекційного процесу на тлі пригнічення імунної відповіді з боку макроорганізму. Оскільки з моменту інфікування захворювання протікає без суб'єктивних клінічних проявів, то пацієнт, на жаль, звертається до лікаря найчастіше на стадії ускладнень.

Імунітет. Захисна реакція на початковій стадії інфекції здійснюється поліморфно-ядерними лімфоцитами. Істотну роль у захисті організму відіграє поліклональна активація В-лімфоцитів. У сироватці крові та секреторних рідинах при хламідіозі виявляють значну кількість імуноглобулінів IgG, IgM, IgA. Однак провідну роль у захисті від хламідійної інфекції відіграють Т-хелпери, які активують фагоцитарну активність макрофагів. Хламідії поглинаються периферичними моноцитами і поширюються в організмі, моноцити осідають у тканинах і перетворюються на тканинні макрофаги (у суглобах, судинах, в ділянці серця). Тканинні макрофаги можуть зберігати життєздатність протягом кількох місяців. Будучи при цьому антигенним стимулятором, вони сприяють утворенню фіброзних гранулом у здоровій тканині. Хламідії або їх фрагменти можуть вивільнятися з клітин і викликати утворення специфічних антитіл, незалежно від того, чи визначається хламідійний антиген у місці проникнення інфекції.

Використання методів ультраструктурного аналізу дозволило довести можливість персистування хламідій в епітеліальних клітинах і фібробластах інфікованих слизових мембран.

Лабораторна діагностика хламідіозів. Основні принципи діагностики хламідійної інфекції – ті самі, що і при іншій бактеріальній патології (табл. 3). Проводяться наступні тестові процедури:

1. Пряма візуалізація агента в клінічних зразках при фарбуванні (бактеріоскопічний метод).
2. Визначення специфічних хламідійних антигенів у клінічних зразках (ІФ, ІФА).
3. Безпосередня ізоляція з тканин хворого (бактеріологічний метод).
4. Серологічні тести, при яких визначаються антитіла (демонстрація змін титрів).
5. Визначення специфічних хламідійних генів у клінічних зразках (ПЛР).

Таблиця 3

Методи дослідження хламідійних інфекцій

Методи	Рекомендації	Час обстеження, год	Коментарі
Бактеріоскопічний	Трахома, кон'юнктивіт зі включеннями	1	Нечутливий при урогенітальних інфекціях
Визначення антигенів: ПІФ, НІФ ІФА	Зразки: урогенітальні, кон'юнктивні; ректальні, назофарингеальні	0,5 2–5	Зразки зберігаються до 7 днів; зразки зберігаються до 2 тиж
Бактеріологічний (культура тканини)	Всі хламідійні захворювання, крім періодів антибіотикотерапії	48–72	"Золотий стандарт", застосовується при контролі вилікування
Серологічний	Інвазивні хламідійні захворювання	1,5–3	При безплідді, артритах, хронічних захворюваннях органів малого тазу, пневмоніях новонароджених
Молекулярно-біологічні методи (ПЛР)	Будь-які зразки, у тому числі сироватка крові та секрет	2	Можливе тривале зберігання матеріалу

Культуральний (бактеріологічний) метод заснований на здатності хламідій до розмноження на перещеплених лініях клітин ссавців або клітин жовткових мішків курячих ембріонів. Після зараження субстрат витримується деякий час (3–14 діб) у певних умовах, потім досліджується на наявність хламідійних колоній (рис. 9). Культуральний метод вважається "золотим стандартом" з умовною чутливістю 100 % (в дійсності – не більше 80 %). Чутливість інших методів прийнято виражати у відсотках по відношенню до культурального методу.

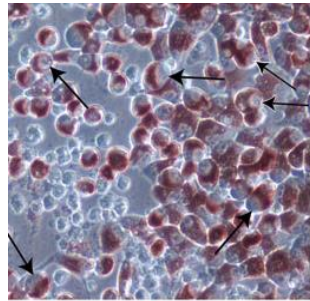


Рис. 9. Включення хламідій у культурі клітин

Метод виділення хламідій у культурі клітин може бути використаний протягом усього періоду захворювання, за винятком періоду антибіотикотерапії і протягом місяця після нього. Однак у даний час метод культуральної діагностики в основному застосовується при контролі вилікування для виявлення хламідій, здатних здійснювати повний цикл розвитку.

Оскільки деякі біологічні рідини організму (наприклад, сім'яна або синовіальна рідини) містять інгібітори росту клітинних культур, виділення хламідій у цих випадках вимагає особливих методичних прийомів.

Цитологічний метод, заснований на візуальному дослідженні забарвленого мазка під великим збільшенням світлового мікроскопа (900–1500×), як один з найбільш старих, тим не менш, досі не втратив свого значення.

Найбільш поширені забарвлення мазків за Романовським–Гімзою і за Маккіавелі. Перевагою цитологічних методів є дешевизна і можливість одночасного виявлення інших інфекцій, недоліком – низька чутливість (10–15 % у "чоловічих" мазках і 30–40 % – у жіночих). Крім того, забарвлення за Романовським–Гімзою вимагає великих часових витрат (1–2 год), тому згадані методи використовуються в основному як додаткові або моніторингові.

При діагностиці уrogenітального хламідіозу метод дослідження мазків, забарвлених за Романовським–Гімзою, характеризується порівняно низькою чутливістю (10–20 %) і рідко застосовується в даний час. Рекомендується використання при кон'юнктивіті новонароджених і гострих очних інфекціях дорослих, коли чутливість цього методу становить 90–100 %.

Пряма імунофлюоресценція (ПІФ) з моноклональними антитілами – найбільш уживаний і універсальний метод діагностики хламідійних інфекцій, що полягає в УФ-мікроскопії спеціально оброблених мазків. Хламідії виявляються у вигляді яскравих точок на темному фоні (рис. 10). Матеріал для дослідження забирається з передбачуваних вогнищ інфекції – слизової уретри, піхви, анального отвору, глотки, очей та ін. Перевагами методу є універсальність і оперативність (час аналізу – 0,5–1 год); недоліки – неінформативність у разі недосяжності вогнищ інфекції (серце, суглоби та ін.), вузька специфічність (хламідії інших видів і хламідії, що позбавлені видоспецифічного антигену не виявляються), а також деяка залежність достовірності аналізу від кваліфікації лаборанта. Метод придатний як для первинного обстеження, так і для контролю результативності лікування. Чутливість – 55–75 % (за іншими даними – 90–95 % – ймовірно, порівняно з "золотим стандартом").

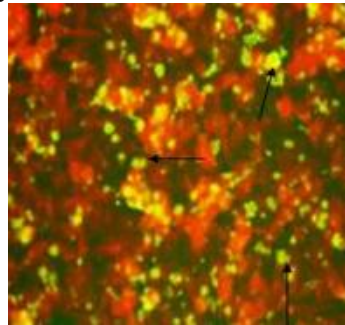


Рис. 10. Виявлення хламідій за допомогою ПІФ

У тих випадках, коли інфіковані органи недоступні для прямого мікроскопічного дослідження (запальні захворювання органів малого таза, безплідність), інформативним є використання серологічних методів обстеження (чутливість і специфічність не менше 95 %). Для серодіагностики в даний час найчастіше використовують імуноферментний аналіз (ІФА) на наявність антитіл. Загальний принцип: антиген фіксується на твердій поверхні, обробляється випробуваною сироваткою, а потім антивидовим імуноглобуліном, пов'язаним із ферментом, що візуалізується після додавання субстрату.

Імуноферментні методи аналізу (ІФА) засновані на виявленні в сироватці крові специфічних антихламідійних антитіл – імуноглобулінів (в основному, IgM і IgG), що продукуються організмом у відповідь на інфікування. Антитіла виявляються при взаємодії зі спеціальними препаратами, які містять хламідійні антигени, що утворюють з антитілами міцний комплекс, який можна виявити різними способами. Перевагами методу є незалежність результативності від досяжності вогнищ інфекції та оперативність (час аналізу – 1,5–3,5 год), недоліками – невисока чутливість (55–65 %), помітна хибна позитивність і "слабопозитивність", пов'язані з можливістю тривалого збереження антитіл у крові після лікування, їх зниженням унаслідок зменшення чисельності мікроорганізмів й імунопригнічуючої дії антибіотиків у процесі хіміотерапії або при їх утворенні після контакту з інфекцією без стійкого зараження. Мають настільки серйозні недоліки, метод, проте, дуже популярний серед лікарів, які практикують хіміотерапію, оскільки практично він завжди створює ілюзію прогресу в лікуванні, пов'язану зі зниженням титрів антитіл з згаданих вище причин. Насправді ж метод ІФА кращий лише в разі передбачуваного глибокого розташування хламідійних вогнищ (застарілий хламідіоз на тлі дегенеративних змін досяжних слизових і "загасання" на них інфекційних вогнищ, наприклад, у людей похилого віку), для обстеження малолітніх дітей (особливо хлопчиків), коли забір матеріалу пов'язаний з технічними складнощами, а також для підтвердження факту контакту з хламідійною інфекцією. Слід уникати ІФА як безальтернативного методу первинної діагностики, особливо для підтвердження результативності лікування. За допомогою порівняльного тестування комбінацією "прямих" методів (посів, ППФ, ПЛР) встановлено, що у 25 % пацієнтів, які достовірно вилікувалися антибіотиками, титри антитіл до і після лікування залишаються незмінними, у 50 % знижуються, а у 25 % навіть підвищуються. Спостерігається тимчасове різке зростання титру антитіл у перші дні і тижні лікування хламідіозу, що, навпаки, завжди вказує на позитивну динаміку процесу, тому що свідчить про розвиток нормальної імунної відповіді.

При діагностиці безсимптомних і ускладнених форм хламідіозу оптимальним є застосування серологічних методів у поєднанні з бактеріологічними та молекулярно-біологічними методами обстеження.

Одним з актуальних напрямків науково-технічного прогресу в лабораторній практиці є мініатюризація аналітичних технологій, що в ряді випадків супроводжується радикальною зміною звичного формату дослідження. Новою діагностичною технологією є імунохроматографічний аналіз, який іноді називають простим швидким тестом.

В основу методів експрес-діагностики хламідійної інфекції покладені імунохроматографія і фермент-специфічна реакція. Метод дозволяє виявляти в досліджуваному матеріалі антигени хламідій. У більшості роз-

роблених наборів застосовуються моно- або поліклональні антитіла до антигену хламідій у тому ж якісному складі, що і в наборах реагентів для імуноферментного аналізу. Швидкі імунохроматографічні тести, такі як Unipath Clearview та ін., можна використовувати біля ліжка хворого, при скринінгових дослідженнях. До переваг даних методів відноситься простота і швидкість процедури дослідження, відсутність потреби в спеціальному обладнанні, коли можливість проведення інших методів діагностики відсутня. Недолік – широке застосування тестів обмежується через недостатньо високу чутливість і специфічність порівняно з методами ампліфікації нуклеїнових кислот.

Оцінка результатів: накопичення в зоні обліку імунних комплексів, що містять мітки, призводить до утворення забарвленої смуги (рожевого кольору різної інтенсивності), яка обліковується візуально. При відсутності антигенів хламідій у досліджуваному зразку забарвлена смуга не формується. Правильність проходження реакції перевіряють за появою кольорової смуги в місці розташування контролю. Якщо забарвлення в цій зоні не з'являється, результат розцінюють як "невизначений", дослідження повторюють з новою пробою клінічного матеріалу.

Розробка методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) стала поворотним моментом у розвитку молекулярної діагностики. Хоча цей метод ампліфікації нуклеїнових кислот і залишається найбільш поширеним, в даний час запропоновані й інші способи ампліфікації.

Усі ампліфікаційні методи можна розділити на три групи, засновані на ампліфікації сигналу, мішені і зонда.

Ампліфікація сигналу. При використанні методів ампліфікації сигналу збільшення концентрації мішені або зонда в ході реакції не відбувається. Значне підвищення аналітичної чутливості методу досягається за рахунок зв'язування з мішенню безлічі мічених молекул. Один з варіантів цього підходу (hybrid capture assay – метод захоплення гібридних молекул) використовується в комерційних тест-системах для виявлення *S. trachomatis* – HC2® CT ID (Qiagen Germantown, MD). Метод заснований на гібридизації в розчині ДНК-мішені і РНК-зонда. Утворені гібридні молекули захоплюються іммобілізованими антигібридними антитілами. Потім до іммобілізованих гібридних молекул приєднуються антигібридні антитіла, мічені лужною фосфатазою. Реакція оцінюється за інтенсивністю люмінесценції, її висока чутливість визначається тим, що до однієї гібридної молекули (ДНК + РНК) приєднується безліч молекул мічених антитіл.

Ампліфікація зонда. При використанні цих методів продукт ампліфікації представлений тільки нуклеотидними послідовностями, що входять до складу зонда. Найбільш відомим варіантом цього методу є лігандна ланцюгова реакція, реалізована в комерційному продукті LCx Probe System (Abbot), проте в 2003 р. виробник відкликав тест-систему з ринку.

Ампліфікація мішені. Всі методи, що відносяться до цієї групи, засновані на проведенні ензиматичних реакцій, у процесі яких один або кілька ферментів синтезують множинні копії нуклеїнової кислоти-мішені.

Класична ПЛР. Принцип методу: ампліфікація ДНК-мішені здійснюється в ході повторюваних циклів, кожен з яких включає:

- денатурацію (утворення одноланцюгових молекул) ДНК-мішені при температурі понад 90 °С;
- приєднання комплементарного олігонуклеотидного праймера на кожній одноланцюговій молекулі ДНК при зниженні температури до 55–65 °С;
- добудова (синтез) дволанцюгової молекули ДНК з кожного праймера в результаті ензиматичної активності термостабільної ДНК-полімерази при використанні дезоксинуклеозидтрифосфатів, що містяться в реакційній суміші при температурі 72 °С.

Після закінчення циклу відбувається подвоєння фрагментів ДНК-мішені. При проведенні n циклів кількість фрагментів ДНК-мішені становитиме $2n$. На практиці для отримання продуктів ампліфікації (амплікон) у кількості, достатній для їх детекції звичайними аналітичними методами, проводять приблизно 30 циклів ампліфікації.

Для детекції продуктів ампліфікації застосовують кілька методів. Найбільш поширеним є горизонтальний електрофорез зразка реакційної суміші, отриманого після закінчення ампліфікації, в агарозному гелі. Результат ПЛР вважається позитивним при виявленні фрагмента ДНК, за своєю молекулярною масою відповідного молекулярній масі амплікона контрольного зразка. Для цього при проведенні електрофорезу необхідно використовувати маркери (фрагменти ДНК відомої молекулярної маси), позитивний і негативний контроль. Істотними недоліками методу є суб'єктивність оцінки результатів електрофорезу оператором, низька продуктивність, неможливість автоматизації процесу, труднощі кількісної оцінки продуктів ПЛР у кожному конкретному зразку. Найбільшу небезпеку становить можливість напрацювання в ході ПЛР неспецифічного продукту, схожого за розмірами з продуктом, який визначається. При існуючій системі детекції можлива видача оператором хибнопозитивного результату.

Альтернативою електрофоретичного методу детекції ПЛР-ампліфікованої ДНК є метод гібридизаційно-флуоресцентної детекції. У ході такого способу детекції ампліфікована ДНК гібридується з праймерами і з міченими флуоресцентним барвником олігонуклеотидними зондами, специфічними до внутрішньої послідовності аналізованого фрагменту. Гібрид, що утворився, автоматично реєструється флуоресцентним або фотометричним ридером. Таким чином, при гібридизаційному способі детекції ДНК специфічність реакції ампліфікації забезпечується, по-перше, завдяки гібридизації з праймерами, по-друге, завдяки гібридизації зі специфічними зондами.

ПЛР у класичному варіанті використовується в комерційних тест-системах виробництва Roche Molecular Diagnostics Pleasanton, CA (AMPLICOR® CT/NG Test for Chlamydia trachomatis і COBAS AMPLICOR® CT/G Test for Chlamydia trachomatis). Мішенню в зазначених тест-системах є криптична плазміда.

Тест-системи, засновані на принципі класичної ПЛР, є найменш зручними в повсякденній роботі (особливо при ручному виконанні), але відрізняються відносно низькою вартістю.

Для підвищення чутливості і специфічності класичної ПЛР був розроблений її варіант, який отримав назву гніздова ПЛР. При цьому використовують дві пари праймерів. Після проведення ампліфікації з використанням першої пари праймерів отриманий амплікон використовують у другому раунді ПЛР з другою парою праймерів. Друга пара праймерів приєднується на внутрішніх ділянках амплікона, таким чином, продукт другого раунду ампліфікації виявляється коротшим, ніж продукт першого раунду. Підвищення чутливості і специфічності гніздової ПЛР досягається внаслідок збільшення загальної кількості циклів ампліфікації (по 15–30 у кожному раунді) і приєднання другої пари праймерів тільки до фрагментів, отриманих у першому раунді. Метод гніздової ПЛР використовується в основному в дослідницьких цілях і не знайшов широкого застосування в комерційних тест-системах.

Із практичної точки зору досить перспективною є мультиплексна ПЛР. При цьому варіанті в одній і тій же пробірці знаходяться кілька пар праймерів, специфічних для різних мішеней, що дозволяє проводити детекцію декількох мішеней одночасно. Конструювання праймерів і оптимізація умов для мультиплексної ПЛР дещо складніше, ніж рішення цих задач для класичної ПЛР, оскільки необхідно виключити можливу компліментарність між різними праймерами і забезпечити для них однакову температуру приєднання. Мультиплексна ПЛР за чутливістю дещо поступається звичайній реакції.

ПЛР у реальному часі (real-time PCR). Один з принципових недоліків, що ускладнює використання класичної ПЛР у рутинній діагностиці, пов'язаний з украй високою чутливістю цього методу, що підвищує ймовірність хибнопозитивних результатів через перехресну контамінацію досліджуваних зразків. Імовірності перехресної контамінації вдається запобігти при використанні методу ПЛР у реальному часі завдяки тому, що процеси ампліфікації і детекції продуктів ампліфікації відбуваються одночасно в одній і тій же пробірці. Для детекції продуктів ампліфікації розроблені досить складні технології, засновані на комплексі ферментативних реакцій, у результаті яких у реакційній суміші виникає флюоресцентний сигнал, за інтенсивністю пропорційний кількості продукту ампліфікації, що утворився.

Специфічність флюоресцентного сигналу вдається створити при використанні ДНК-зондів, комплементарних внутрішнім ділянкам фрагмента ДНК, обмеженого праймерами. Найбільшого поширення набули TaqMan-зонди і "молекулярні маяки".

ПЛР у реальному часі може бути використана для визначення кількісного вмісту ДНК-мішені в біологічному зразку. Доцільність кількісної детекції *S. trachomatis* при уrogenітальній хламідійній інфекції в даний час не визначена, що, однак, не виключає такої можливості в майбутньому.

Для проведення ПЛР у реальному часі необхідні спеціальні термоциклери з прецизійною оптикою, що дозволяють проводити моніторинг інтенсивності флюоресценції в реакційній суміші. Сучасні термоциклери для ПЛР у реальному часі оснащені каналами для детекції флюоресценції в декількох діапазонах довжин хвиль (до 5–6), що дозволяє розробляти мультиплексні формати реакції.

Перевагою методу є його висока чутливість і специфічність, можливість діагностувати одночасно дві інфекції (гонорею і уrogenітальну хламідійну інфекцію), можливість використовувати для тестування цервікальні зразки, взяті для цитологічного скринінгу, а також проби, отримані неінвазивним способом (сеча, еякулят, вагінальне відокремлювання), наявність внутрішнього контролю ампліфікації.

Метод має два основних недоліки:

- Наявність бета-хоріонічного гонадотропіну, кристалів та інших компонентів у зразках сечі у жінок може пригнічувати ампліфікацію ДНК-мішені *S. trachomatis*, приводячи до збільшення кількості помилково негативних результатів. Дану проблему дозволяє вирішити використання внутрішнього контролю реакції.

- Недавно в Скандинавії з'явилися варіанти *S. trachomatis*, в яких у результаті мутації виявлено відсутність ділянки криптичної плазмиди *S. trachomatis*. Такі її штами не виявляються за допомогою традиційної тест-системи Amplicor СТ, що може стати підставою для занепокоєння в разі поширення цих чи подібних варіантів *S. trachomatis*. До теперішнього часу за межами Скандинавії виявлено лише кілька таких мutowаних штамів *S. trachomatis*.

Загальні питання хіміопрофілактики та хіміотерапії хламідіозів.

При лікуванні необхідно враховувати, що в циклі розвитку хламідій виділяють два етапи: інфекційний (ЕТ), коли вони резистентні до антибіотикотерапії, і вегетативний, неінфекційний (РТ), на якому хламідії чутливі до антибіотиків. Важливо також пам'ятати, що створення несприятливих умов для розвитку хламідійної інфекції або використання при її лікуванні антибіотиків пеніцилінового ряду може призвести до утворення L-подібних форм хламідій.

Для лікування використовують антибіотики: сумамед, макроліди (вільпрафен, клацид, роваміцин), фторхінолони (ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин), тетрацикліни (метацикліну гідрохлорид, докси-

цикліну гідрохлорид); а також імуномодулятори: циклоферон, тималін, асвіт, пірогенал, плазмол та ін. Для лікування кон'юнктивіту в ново народжених використовують еритроміцин.

Профілактика. Методів специфічної профілактики захворювань, що викликаються хламідіями, не розроблено. Профілактику уrogenітального хламідіозу реально здійснювати, дотримуючись усіх правил профілактики захворювань, що передаються статевим шляхом. Профілактику хламідійних уражень новонароджених здійснюють шляхом санації вагітних та профілактичною антисептичною обробкою кон'юнктивального мішка новонароджених.

Дієвими заходами розповсюдження орнітозу є ветеринарний нагляд за ввезенням продукції птахівництва з-за кордону, епізоотичною ситуацією у птахогосподарствах.

ТРАХОМА

Серед збудників хламідіозів людини безумовним лідером є *C. trachomatis*. Вважається, що єдиним природним резервуаром для цього виду є людина. Всього відомо понад 20 нозологічних форм, що мають відношення до *C. trachomatis*. Так, серовар А, В, Ва, С – збудники класичної ендемічної трахоми. У світі близько 600 млн чоловік страждають на це захворювання. У помірного кліматі проблема ендемічної трахоми не так гостра, як у тропічних і субтропічних поясах. Однак хламідійний кон'юнктивіт повсюдно займає лідируюче положення серед інших. Збудниками хламідійного кон'юнктивіту можуть бути й інші серовари *C. trachomatis* і, можливо, інші види хламідій.

Трахома (від грец. *trachys* – шорсткий) – хронічне специфічне захворювання очей. В основі патогенезу лежить ушкодження епітеліальних клітин кон'юнктиви, в яких розмножуються хламідії. При цьому фолікули збільшуються і нагадують ікру жаби (рис. 11). Патоморфологічно при цьому розгортається прогресуючий фолікулярний кератокон'юнктивіт, що завершується утворенням рубцевої сполучної тканини і сліпототою. Нерідко уражаються рогівка, нервові закінчення в кон'юнктиві, регіонарні лімфатичні вузли.



Рис. 11. Збільшені фолікули при трахомі

У дорослих спостерігається різного ступеня інтенсивності сльозотеча при слабо вираженому свербінні або повна її відсутність. Виділення липке, часто гнійне. Процес зазвичай поширюється на обидва ока. Подальший перебіг захворювання залежно від кліматичних умов, серовару, вікового, статевого й імунного статусу може протікати за класичним "трахомним" сценарієм або різко змінити перебіг і локалізацію. Наслідком трахоми можуть бути заворот і виворіт повік, сліпота, більмо, трихіаз (неправильне розташування вій, що призводить до подразнення кон'юнктиви, рогівки і виникнення запалення) (рис. 12).



Рис. 12. Ускладнення при трахомі

Часто запалення слизових очей припиняється самостійно, що практично ніколи не означає позбавлення від інфекції.

Джерелом інфекції може бути тільки хвора людина чи бактеріоносії. Шлях передачі – контактнo-побутовий. Реалізується через брудні руки або забруднені (у тому числі і мухами) предмети (посуд, рушник, носова хустинка, постільна білизна). Трахома – сімейна хвороба. Вона поширена всюди, але найбільше серед населення Азії, Африки, Південної Америки, де щорічно хворіє 400–500 млн. людей. Втрату зору відмічають у 10–20 млн осіб.

Постінфекційний імунітет слабкий, нестійкий і нетривалий. Повторні захворювання на трахому протікають важче, ніж первинні, внаслідок розвитку гіперчутливості.

Профілактика має бути спрямована на виявлення й ізоляцію хворих, поліпшення соціально-побутових і санітарно-гігієнічних умов.

Кон'юнктивіт новонароджених повинен викликати серйозні підозри на їх інфікованість хламідіями. Як правило, він розвивається через 2–3 тиж після народження і досить швидко "проходить сам собою", що заспокоює батьків, а часто й медперсонал. Якщо інфікування відбулося до пологів або при проходженні по родових шляхах і вдалося уникнути інфікування очей, кон'юнктивіт може і не виникнути (до 50 % випадків). Тому, як важливий симптом, кон'юнктивіт новонароджених виникає не завжди, і навпаки, не всі кон'юнктивіти мають хламідійну етіологію.

Кон'юнктивіт новонароджених характеризується запальною інфільтрацією кон'юнктиви переважно нижньої повіки (рис. 13). У дітей захворювання триває приблизно 1 рік і закінчується спонтанним одужанням.

Зараження дорослих можливе під час купання у зараженій хлорованій воді басейнів. Інкубаційний період триває 5–12 діб. Захворювання проявляється потовщенням кон'юнктиви, гіперемією нижнього склепіння. Гострий період хвороби триває 10–15 діб, але інфільтрація зберігається 2–3 міс і навіть протягом року.

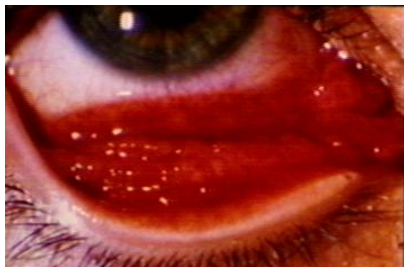


Рис. 13. Кон'юнктивіт, викликаний хламідіями

ВЕНЕРИЧНА ЛІМФОГРАНУЛЬОМА

Збудниками венеричної лімфогранульоми є серовари L1, L2, L3 *C. trachomatis*. Захворювання характеризується важким ураженням лімфоїдної тканини.

Венерична лімфогранульома (пахвинний лімфогранулематоз, або хвороба Ніколя–Фавра) – венерична антропонозна інфекція хламідійної природи, яка трапляється головним чином у країнах з тропічним і субтропічним кліматом і характеризується ураженням статевих органів, лімфатичних вузлів та іноді симптомами генералізації інфекції. Як самостійна нозологічна форма була виділена в 1913 р. J. Durand, J. Nicolas і M. Favre.

Збудник – представник виду *C. trachomatis*, у морфологічному, антигенному, біологічному відношенні схожий з іншими представниками цього виду, відрізняється від них більш високою патогенністю для лабораторних тварин і курячих ембріонів. Має виражений епітеліо- і лімфотропізм.

Джерело інфекції – інфікована людина. Механізм передачі збудника – контактний, шлях поширення інфекції – статевий. Описано побутовий шлях і випадки професійного зараження (хірурги, венерологи) з атиповою локалізацією патологічного процесу (шкірні покриви рук, обличчя, слизові оболонки очей, рота та ін.). Сприйнятливість висока. Імунітет стійкий, повторні захворювання рідкісні.

Причини ендемічності венеричної лімфогранульоми в ряді регіонів Південно-Східної Азії, Центральної та Південної Америки точно не відомі. Мабуть, має значення загальний комплекс кліматичних і соціально-економічних чинників, низький рівень гігієнічної та статевої культури.

Інкубаційний період коливається від 3 до 30 днів. Потім на голівці статевого члена, на шкірі пахової ділянки або на слизовій оболонці уретри у чоловіків, на статевих губах, у піхві, на шийці матки у жінок з'являється первинний елемент, що швидко еволюціонує (лімфогранулематозний шанкр) – пухирець або папула, пустула, ерозія, виразка – неглибока, роз-

міром 1–3 см, з неправильними округлими обрисами, покрита гноєм, яка оточена запальним обідком без ущільнення в її основі (рис. 14, А). За відсутності лікування до 7–9-ї доби намічається тенденція до мимовільної епітелізації виразки, але в цей же час починають збільшуватися пахові лімфатичні вузли у чоловіків і лімфатичні вузли малого тазу у жінок, які ущільнюються, при пальпації вони болючі. Надалі вузли зливаються в конгломерат (бубони), у них з'являються осередки розм'якшення, утворюються фістули, з яких виділяється гній, іноді з кров'ю (рис. 14, Б).



Рис. 14. Венерична лімфогранульома: А – первинний афект, Б – бубон

У нелікованих випадках до патологічного процесу залучаються більш глибокі лімфатичні вузли, а потім відбуваються генералізація хламідійного процесу і дисемінація збудника в довколишні і віддалені органи і тканини: метастатичні бубони верхніх кінцівок, ураження вен з тромбофлебітом, суглобів, внутрішніх органів, епідидиміт, аднексит, ірит, кератокон'юнктивіт, менінгіт та ін. Всі симптоми захворювання розвиваються на тлі загальної інтоксикації (головний біль, міалгії, артралгії, зниження апетиту, схуднення, підвищення температури тіла та ін.), лейкоцитозу (зазвичай помірний), анемії і збільшення ШОЕ.

У разі відсутності лікування через декілька місяців (2–3) або років лімфатичні вузли зменшуються, утворюються рубці. Далі хвороба проявляється стійким порушенням руху лімфи в статевих органах, промежині, анальному отворі. Це призводить до розвитку слоновості (у чоловіків – мошонки, пеніса, у жінок – вульви), появи виразок і фістул у ділянці статевих органів і заднього проходу. Пізніше з'являються папіломатозні вирости, абсцеси. Прилеглі тканини склерозуються, що може призвести до ректальної непрохідності.

Перенесення венеричної лімфогранульоми супроводжується формуванням стійкого імунітету.

Діагностика. Матеріалом для дослідження є гній із бубонів, біоптати з уражених лімфовузлів, а також сироватка крові. Діагноз встановлюють з урахуванням клінічних даних, але зазвичай він вимагає підтвердження специфічними методами діагностики. Збудник виявляють у мазках-відбитках вмісту виразок, бубонів, фістул, виділяють його шляхом культиву-

вання в курячих ембріонах або клітинних культурах. Серологічну діагностику проводять за допомогою РЗК або реакції непрямой мікроімунфлюоресценції. Розроблено внутрішньошкірну алергічну пробу – реакцію Frey.

Прогноз. При своєчасній терапії сприятливий.

Лікування. Як при урогенітальному та інших хламідіозах.

УРОГЕНІТАЛЬНИЙ ХЛАМІДІОЗ

Серовари D, G, H, J, K *S. trachomatis* викликають урогенітальний хламідіоз, що виявляється запальними процесами різних ділянок сечостатевої системи. Ці ж серовари збудників здатні поширюватися контактним шляхом і спричиняти кон'юнктивіти і пневмонії у новонароджених.

Джерелом інфекції при урогенітальному хламідіозі є людина, яка хворіє гострою або хронічною формою захворювання з маніфестним або безсимптомним перебігом. Поширення в організмі відбувається каналікулярно, трансплацентарно, лімфогенно, гематогенно, а також за участю сперматозоїдів.

Для дітей описують такі основні шляхи зараження хламідіозом, як антенатальний (протягом вагітності – трансплацентарно або при ковтанні інфікованих навколоплідних вод у разі ураження хламідіями ендометрію, фалопієвих труб, децидуальної і плодових оболонок) та інтранатальний (під час пологів). Інтранатальний шлях є традиційним для інфекцій, що передаються статевим шляхом, з інфікуванням кон'юнктиви, а далі через носо-слізний канал відбувається потрапляння збудника в дихальні шляхи. Аналогічний механізм зараження статевих органів у дівчаток. Проте найімовірніше антенатальне зараження, оскільки хламідії були виявлені майже у третини дітей, народжених шляхом кесаревого розтину в разі вагітності, яка мала патологічний перебіг.

Можливий контактно-побутовий шлях, що зустрічається у дівчаток в основному дошкільного віку (через постільну білизну, предмети туалету), і навіть статевий шлях передачі інфекції, властивий для сексуально активних підлітків. Дебют захворювання них пов'язаний, як правило, з початком статевого життя, зміною статевого партнера. Передача хламідій при статевій близькості від зараженого чоловіка до жінки відбувається в 40 % випадків, від жінки до чоловіка – в 32 %. При зараженні статевим шляхом інкубаційний період становить у середньому 10–15 діб (від 7-ї до 21-ї доби).

Розвиток, перебіг і результат хламідійної інфекції визначаються насамперед станом макроорганізму, особливостями його імунних реакцій (у тому числі й генетично обумовлених), станом гомеостазу, наявністю супутньої патології та багатьма іншими факторами, а також унікальними біологічними властивостями збудника, його здатністю до тривалої персистенції, антигенної та імунологічної мімікрії.

Необхідною умовою поширення є неспроможність захисних біологічних бар'єрів. Клітини здорового організму мають досить потужну систему біологічного захисту, що включає структурну і функціональну стійкість мембрани, антиоксидантну систему і поєднане з нею перекисне окислення ліпідів, що забезпечують завершений фагоцитоз. Проникнення хламідії у клітку, переважно функціонально не ослаблену, не є фагоцитозом у класичному сенсі, тому що збудник активно проникає в неї, впливаючи на біомембрани клітини, пригнічуючи її захисні реакції і перебудовуючи метаболізм у вигідну для себе сторону.

В інфікованому локусі виникає ділянка гіперемії й набряку слизової. Внаслідок патогенного впливу збудників відбувається часткова десквамація епітелію й порушується цілісність слизової, що створює сприятливі умови для приєднання вторинної гнійної інфекції.

Маючи тропізм до циліндричного епітелію, хламідії найчастіше виликають ендоцервіцити. Так, наприклад, при патології шийки матки відсоток інфікування хламідіями становить 61,5–75. Надалі можливе поширення на ендометрій, ендосальпінкс, очеревину малого таза та ін. Хламідіоз нерідко є причиною первинного перигепатиту, пельвіоперитоніту, перисальпінгіту, періапендициту (апендикулярно-генітальний синдром Fitz-Hugh-Curtis). У нормальному багат шаровому плоскому епітелії у дорослих жінок хламідії не здатні розмножуватися. Однак у підлітків у період пубертату нерідко уражається і плоский епітелій шийки матки, піхви.

Основною ланкою патогенезу урогенітального хламідіозу є рубцевий процес, що повільно протікає: порушення мікроциркуляції і трансендотеліального бар'єра, втрата клітинами ворсинок, стаз і крайове стояння тромбоцитів, гіпоксія і набряк тканини, пошкодження цитопемсису. Унаслідок посилення синтезу колагену і проліферації фібробластів утворюється рубцева тканина, що нерідко призводить до спайкового процесу в малому тазі і в подальшому до трубного безпліддя, ектопічної вагітності.

Збудники хламідіозу легко передаються як статевим, так і "мокрим" побутовим шляхом (включаючи загальні ванни, біде, унітази, лазні, басейни і водойми з теплою стоячою водою), а також під час вагітності та пологів від матері до дитини, представляючи найбільшу епідеміологічну небезпеку серед хламідійних інфекцій. Клінічні прояви урогенітального хламідіозу (особливо у чоловіків) виражені слабо, не завжди специфічні і залежать від безлічі параметрів. Однак з огляду на пандемічні масштаби цієї форми хламідіозу вони гідні більш докладного опису.

У чоловіків захворювання, як правило, проявляється гострим уретритом, у жінок – уретритом і/або цервіцитом. При урогенітальній хламідійній інфекції можуть спостерігатися також клінічні прояви у вигляді проктиту і фарингіту, що найбільш часто відзначається у чоловіків, які

мають секс з чоловіками. Нерідко відзначається безсимптомний перебіг захворювання (у чоловіків – у 40–50 % випадків, у жінок – у 70–80 %), що може призводити до пізнього звернення пацієнтів до лікаря і розвитку серйозних ускладнень з боку репродуктивної системи: у жінок – до запальних захворювань органів малого таза, ектопічної вагітності, трубному безпліддю, у чоловіків – до епідидиміту. Роль *S. trachomatis* у розвитку хронічного простатиту не доведена. Незалежно від статі пацієнта уrogenітальна хламідійна інфекція може призводити до розвитку реактивних артритів, у випадках орогенітального контакту – до розвитку фарингіту, а при проникному анальному контакті – до проктиту. Випадкове потрапляння виділень зі статевого тракту в очі може призводити до виникнення кон'юнктивіту у дорослих. Уrogenітальна хламідійна інфекція, що розвивається під час вагітності і не пролікована, може призводити до розвитку кон'юнктивіту або пневмонії у новонародженого. У деяких випадках спостерігають спонтанну елімінацію хламідій, що необхідно враховувати при інтерпретації результатів діагностичних досліджень.

Жінки найчастіше скаржаться на клейкі, мізерні, безбарвні, прозорі або мутнуваті виділення з піхви або уретри, що перетворюються в процесі синерезису і підсихання на характерні сіруваті "гумки", тягучі болі внизу живота – в ділянці матки або яєчників (частіше справа) або розлиті, що віддають у стегна і/або крижі. Особливо характерний передменструальний біль (альгантедисменорея) і біль у перші дні після початку менструації (альгінідисменорея), які найбільш інтенсивні в теплу погоду. При обстеженні часто виявляється ендометрит, псевдоерозія шийки матки, ендочервіцит, лімфоїдні фолікули ділянки зівя і синехії (спайки) різної локалізації, що також є "візитною карткою" хламідіозу. Здатність до зачаття зазвичай знижена (або відсутня). У багатьох під час вагітності відзначається підвищений тонус матки із загрозою викидня. Звичайними ускладненнями є також генітальний інфантилізм, позаматкові вагітності, гіпотрофія плода та ін. Вельми вірогідний зв'язок між хламідійною інфікованістю ендометрія і виникненням деяких форм ендометриту. Повідомлялося про аномально високі показники недоношеності і мертвонароджень на тлі хламідіозу.

Чоловіки нечасто відзначають біль або свербіння в уретрі (гострий уретрит може спостерігатися при інфекції, поєднаній, наприклад, з гонореєю), яєчках та інших статевих частинах, ущільнення або набряклість в яєчках, ригідність крайньої плоті. Частими ускладненнями хламідіозу, особливо поєданого з іншими інфекціями, є простатит (суб'єктивно – "дискомфорт" у глибині пахової ділянки, м'яве, без натиску, відходження сечі, зниження потенції), епідидиміт – запалення придатка яєчка, частіше підгострий, та інші уrogenітальні розлади. Для хлопчиків (інфікованих у дитинстві) характерний фімоз (звуження крайньої плоті). У дівчаток часто спостерігається вульвіт і спайковий процес зовнішніх статевих органів.

У немовлят – симетричний кон'юнктивіт у перші тижні життя, бронхіт і пневмонія, частіше у віці 8–15 міс, гідроцефальний синдром і схильність до родових травм, обумовлені аномаліями пренатального розвитку скелета і зв'язкового апарату.

При будь-яких статі і віці нерідкі ангіни, які парадоксально полегшуються від холодного пиття або морозива, синусити, бронхіти з відділенням в'язкого слизу, "атипові", уповільнені пневмонії (можливі і при мікоплазмозі), ураження суглобів (часто – правого тазостегнового), очей, органів слуху, серця (дефекти клапанів, ІХС, ІМ), хребта (особливо, попереково-крижової зони), печінки (холецистит та ін.), уrogenітального тракту (гломерулонефрит), болі в шлунку (часто без гастроскопічних ознак захворювання – "механічний" біль унаслідок формування спайок між зовнішньою оболонкою шлунка і прилеглими органами), збільшення пахових лімфовузлів, сухість у роті і поколювання (пощипування) в ділянці підшлункової залози (панкреатит) і/або селезінки. Часто спостерігається ураження органів ендокринної системи – надниркових залоз, щитоподібної залози (зазвичай, вузловий зоб) і гіпофіза. Звичайний хламідіоз і при інсулінонезалежному цукровому діабеті (ІНЦД), що дає підставу підозрювати наявність причинно-наслідкового зв'язку між хламідіями й ІНЦД. Сприйнятливість до простудних захворювань не змінена, а нерідко навіть знижена. Хламідії, виділяючи потужні екзотоксини, є не тільки отруювачами організму, але і своєрідними перепонами на шляху деяких інших інфекцій. Тому інфіковані рідше, ніж неінфіковані хворіють на ГРЗ та інші простудні захворювання. Іноді у хворих відзначається схильність до алергічних та астматичних реакцій (аж до дуже важких), але такого роду симптоми, мабуть, вимагають наявності й інших клітинних інфекцій. При наявності відповідних збудників (вірусів, грибів) можуть спостерігатися шкірні прояви хламідіозного імунодефіциту у вигляді різноманітних новоутворень, кондилом, молюсків або мікозів (особливо характерні оніхомікози). Нерідко може спостерігатися тривалий (місяцями) субфебрилітет.

Хламідії (поряд з мікоплазмами) значною мірою визначають клінічні прояви ВІЛ-інфекції та СНІДу. В уrogenітальному тракті хламідії були виявлені у всіх обстежених ВІЛ-інфікованих. При цьому наявність або відсутність такої найбільш постійної ознаки первинного СНІДу як збільшення груп регіонарних лімфовузлів (нерідко помилково іменоване лімфаденітом) повністю залежало від наявності або відсутності хламідій у мазках у процесі лікування. Є підстави вважати, що на тлі вікового або набутого імунодефіциту хламідії можуть безперешкодно проникати в кров'яне русло і "метастазувати" в різних органах і в самих судинах, викликаючи в них фіброзні зміни, що призводять до ішемізації, порушення венозного і лімфатичного відтоку. Крім того, відомо, що хламідіоз викликає подібні з ВІЛ порушення в лімфоцитарній системі, придушуючи її Т-хелперну складову.

Запідозрити хламідійну інфекцію у новонароджених можна при наявності в анамнезі вказівок на виявлення хронічних уrogenітальних захворювань у батьків: наявність патології вагітності (самовільний викидень, загроза переривання, пізній токсикоз, багатоводдя, плацентарна недостатність, затримка розвитку і гіпотрофія плода, передчасне відшарування нормально розташованої плаценти, передчасні пологи), розвиток під час вагітності гострого вильвіту, кольпіту.

Симптоматика уrogenітального хламідіозу в новонароджених зазвичай більш виражена, ніж у дорослих, і проявляється вильвовагінітом, уретритом, цервіцитом. Екстрагенітальні прояви різноманітні і за локалізацією, і за виразністю патологічного процесу – від тривалих, асимптомних ринофарингіту, євстахіїту, проктиту до внутрішньоутробного сепсису, пневмонії, респіраторного дистрес-синдрому, гастроентеропатій, міокардиту, менінгоенцефаліту.

Відомо, що у новонародженого антитіла представлені в основному материнськими IgG, а рівні IgM і IgA, якщо не було внутрішньоутробної інфекції, незначні. Через 9 міс материнські IgG зникають. IgM і IgA, присутні в крові дитини, продукуються його власними плазматичними клітинами, оскільки ці антитіла не проникають через плаценту. Кількість IgG у сироватці крові після народження зазвичай досягає рівня дорослого організму протягом першого року життя, рівень IgM – до віку 4 років, а IgA – у підлітковому періоді. Тому наявність антихламідійних антитіл у дитини, титри яких мають тенденцію до зниження, вказує на їх анамнестичний характер (пасивна передача антитіл від матері). Відсутність у новонародженої дитини антихламідійних антитіл не означає відсутності хламідіозу і вимагає проведення мікробіологічного і повторного серологічного обстеження і спостереження.

Особливістю проявів набутого хламідіозу у дітей є латентний, безсимптомний перебіг, який у подальшому нерідко реалізуються в маніфестну форму. Хламідійна інфекція може мати гострий, персистуючий або латентний перебіг, змінюючи свій характер у процесі взаємодії мікро- і макроорганізму. При персистуючій інфекції розмноження збудника в організмі відбувається постійно, але клінічних симптомів захворювання не відзначається, тобто дитина вважається практично здоровою. При латентній (прихованій) інфекції немає надмірного розмноження збудника, спостерігається постійний антигенний вплив, а інфікування реалізується в захворюваннях в умовах зниження імунного захисту організму.

Після перенесеного уrogenітального хламідіозу імунітет не формується. Наявні у сироватці крові людей без клінічних проявів інфекції протихламідійні антитіла не забезпечують захисного ефекту і можуть свідчити про латентний чи персистентний характер перебігу інфекційного процесу. Під час захворювання на уrogenітальний хламідіоз можливе реінфікування.

Лабораторна діагностика захворювань, викликаних хламідіями, має першорядне значення у зв'язку з тим, що клінічні прояви не патогномонічні, широке розповсюдження мають атипіві й безсимптомні форми захворювання.

Труднощі виявлення хламідій за допомогою світлооптичної мікроскопії пов'язані з їх малими розмірами, а також з нездатністю рости на штучних поживних середовищах через облігатний внутрішньоклітинний паразитизм.

У зв'язку з тим, що хламідії мешкають усередині клітин циліндричного епітелію, як матеріал для дослідження використовують саме зскрібки (а не виділення!) зі слизової оболонки уретри, шийного каналу, прямої кишки, кон'юнктиви та ін. У новонароджених як матеріал для дослідження використовують зскрібок із кон'юнктиви очей і задньої стінки глотки, у дівчаток – зскрібок із вульви. Для отримання адекватного результату необхідно, щоб досліджуваній матеріал містив достатню кількість епітеліальних клітин і мінімальну кількість слизу і домішок крові. Наявність у досліджуваному матеріалі великої кількості слизу і домішок крові може привести як до хибнопозитивних, так і до хибнонегативних результатів.

Серед методів ідентифікації збудника виділяють: морфологічні, культуральні, імунологічні та молекулярно-біологічні. Методи виявлення *C. trachomatis* діляться на прямі й непрямі (побічно вказують на наявність збудника у пацієнта).

Методи прямого виявлення. Морфологічні методи засновані на виявленні включень хламідій, а не окремих мікроорганізмів. При фарбуванні за Романовським–Гімзою ЕТ забарвлюються в пурпурний, а РТ – у синій і блакитний кольори. Метод простий, доступний, проте чутливість його невисока – 15–30 %, збудник виявляється в основному при свіжому хламідіозі до лікування.

Більш високу специфічність (50–98 %) і чутливість (54–95 %) має імунофлюоресцентний аналіз зі специфічними моноклональними антитілами, кон'югованими з флюоресцентним барвником (прямий метод), або вторинними антитілами, кон'югованими з барвником (непрямий метод). Діагноз вважається позитивним тільки при виявленні ЕТ хламідій. Оцінка результатів суб'єктивна, вимагає високого рівня підготовки фахівця.

Застосування імуноферментного аналізу дозволяє виявляти хламідійний антиген. З огляду на високу чутливість (80–95 %) і специфічність (90 %) він може бути використаний як скринінговий.

Одним з високоінформативних методів діагностики генітального хламідіозу є виділення збудника на культурі клітин (Hella L-929, Mc-Coy). Володіючи високою специфічністю і майже 100 % чутливістю (так званий "золотий стандарт"), метод має високу вартість, трудомісткий, термін виконання тривалий. Сутність культурального методу полягає в примусовому

зараженні моношару клітин, чутливих до хламідій, матеріалом від хворого. Через 48–60 год (відповідно до циклу розвитку хламідій) клітини фіксують, обробляють спеціальними реагентами, і обліковують результати під люмінесцентним мікроскопом (у разі використання імунофлюоресцентного методу). Облік результатів проводять при наявності специфічних внутрішньоклітинних хламідійних включень. Культуральний метод дозволяє виявляти мінімальну кількість хламідій, що містяться в досліджуваному матеріалі. Навіть одне ЕТ сформує цитоплазматичне включення, яке набагато простіше виявити, ніж саме ЕТ. Метод є якісним, досить знайти хоча б одне включення, щоб вважати результат позитивним.

Визначаються тільки життєздатні хламідії, що особливо важливо для пацієнтів, які пройшли курс лікування антибактеріальними препаратами. Це основна перевага культурального методу перед усіма іншими методами виявлення хламідій. Так, наприклад, методи імунофлюоресценції і полімеразної ланцюгової реакції дозволяють виявляти всі форми хламідій, у тому числі і загиблі (нежиттєздатні форми хламідій можуть зберігатися в тканинах до 2 міс), що може служити джерелом хибнопозитивних результатів. Метод високоефективний, особливо в перші тижні після закінчення терапії. Його можна використовувати як критерійвилікування.

В останні роки широкого розповсюдження набули такі молекулярно-біологічні методи, як ПЛР і лігазна ланцюгова реакція (ЛЦР), метод транскрипційного аналізу, ДНК-зонди. Порівняно з широко використовуваними в клінічній практиці імунологічними тестами ПЛР-діагностика має низку переваг: високу специфічність; адекватну чутливість, що дозволяє діагностувати не тільки гострі, а й латентні інфекції в клінічно значущому титрі (можна виявляти навіть поодинокі бактерії або віруси); можливість ідентифікації збудника протягом 4,5–5 год.

Методи непрямого виявлення. Для підтвердження діагнозу і уточнення фази захворювання рекомендують використовувати методи виявлення хламідійних антитіл у сироватці крові, застосовуючи такі реакції: зв'язування комплементу (РЗК), непрямої імунофлюоресценції (НІФ), мікроімунофлюоресценції (МІФ), а також імуноферментний аналіз (ІФА) і рекомбінантний родоспецифічний ліпополісахаридний ІФА (r-ELISA; Medac, Німеччина). До тестів нового покоління відносяться імуноферментні діагностичні системи на основі синтетичних пептидів варіабельної частини основного мембранного білка *C. trachomatis*, що забезпечують чітку видову діагностику хламідіозів. Це особливо важливо при висхідній і персистуючій інфекції, яка підтримує хронічний перебіг хвороби протягом кількох місяців і навіть років і тим самим пошкоджує або руйнує тканини і органи.

Гостра фаза захворювання характеризується продукцією IgM-антитіл. Уже через 48 год після зараження можна виявити ці антитіла в крові,

пік IgM відзначається на 8-10-й день. Потім концентрація IgM починає знижуватися. IgA-антитіла з'являються в цей же період, їх можна виявити з 10-го дня. Короткий період, у який виявляються й IgA-, й IgM-антитіла, відповідає розпаду інфекційного процесу.

На 15–20-у добу від початку хвороби починає реєструватися діагностично значущий рівень IgG, що свідчить про перехід у хронічну фазу захворювання.

У міру згасання імунної відповіді відбувається зниження титрів антитіл у тій же послідовності. Хламідії час від часу вивільняються з клітини і таким чином викликають утворення антитіл. При реінфекції і реактивації виникає стрибкоподібний підйом титрів IgG і IgA (бустер-ефект). Імуноглобуліни класу M практично відсутні. Поява одиничних IgA з постійно низькими титрами протягом тривалого часу при безсимптомному перебігу захворювання свідчить про наявність персистенції збудника. Постійно визначаючи низькі титри IgG-антитіл вказують на давно перенесену хламідійну інфекцію. Виявлення специфічних IgA і IgG можна використовувати для контролю над ефективністю проведеної терапії: при успішному лікуванні їх титр знижується в 2–3 рази. Для оцінки динаміки титрів антитіл у пацієнтів проводять дослідження специфічних антитіл з інтервалом у 2–3 тиж.

При оцінці рівня IgM слід враховувати можливість виникнення перехресної гуморальної реакції на наявні в організмі *S. pneumoniae* (набори для визначення IgM методом імуноферментного аналізу не володіють високою специфічністю).

Тривало циркулюючи в низькому граничному титрі IgG вказують на перенесену хламідійну інфекцію.

Остаточна постановка діагнозу залежить від визначення стадії і типу інфекції, а це, у свою чергу, від присутності антитіл певного класу. Специфічність серологічних методів діагностики становить 92–99 %, а чутливість – 98 %.

Верифікація діагнозу повинна ґрунтуватися на виявленні *S. trachomatis* за допомогою двох методів, один із яких – ПЛР.

Прямий імунофлуоресцентний тест або ПЛР, виконані раніше 3–4 тиж після лікування, можуть дати хибнопозитивні результати через можливе збереження нежиттєздатних мікроорганізмів або їх залишків. Якщо пацієнт приймав антибактеріальні препарати протягом останніх 4–6 тиж, проводити дослідження недоцільно. Лабораторні дослідження бажано проводити в одній і тій же лабораторії, використовуючи одні й ті ж діагностичні тести.

Для профілактики рецидивів, реінфекції і ускладнень необхідно обстеження і лікування статевих партнерів, обов'язкове обстеження через 3 і 6 міс після проведеної терапії.

Синдром Рейтера

Під синдромом Рейтера розуміють поєднання артриту периферичних суглобів, що триває більше 1 міс, з уретритом (у жінок – цервіцитом) і кон'юнктивітом. Синдром супроводжується характерним ураженням шкіри і слизових – бленорейною кератодермією, цирцинарним баланітом і стоматитом.

Синоніми: уретроокулосиновіальний синдром, хвороба Рейтера.

Епідеміологія й етіологія. Половина хворих – молодше 22 років (спорадична форма синдрому), 90 % хворих – чоловіки (спорадична форма синдрому). Найчастіше хворіють вихідці з Північної Європи. Азіати й африканські негри хворіють вкрай рідко.

Синдром розвивається через 1–4 тиж після перенесеної інфекції – дизентерії, інших кишкових інфекцій, негонококового уретриту. Як правило, спочатку з'являються уретрит і кон'юнктивіт, а потім – артрит.

Клінічні прояви: нездужання, гарячка; дизурія, виділення з сечовипускального каналу. Очі: почервоніння, світлобоязнь. Артрит: біль у ділянці сідничних горбів, клубових гребенів, довгих трубчастих кісток і ребер (обумовлена запаленням сухожиль і фасцій); біль у п'яті в місці прикріплення підшовного апоневрозу і ахілового сухожилля; біль у спині; біль у суглобах. Ураження шкіри нагадує псоріаз, особливо при локалізації вогнищ на долонях і підшвах, голівці статевого члена і в порожнині рота.

Бленорейна кератодермія: папули, везикули, плями. Елементи поступово збільшуються в розмірах, потім у центрі з'являється пустула і починається зроговіння. Покриті роговою кіркою папули нагадують устриць. Можуть з'явитися ерозії, що нагадують пустульозний псоріаз (особливо на тілі статевого члена і мошонки). На підшві і дорсолатеральній поверхні стопи – червонувато-бурі папули, везикули і пустули. У центрі елементів – ерозії і характерні рогові кірки; по периферії – лущення. Локалізація бленорейної кератодермії: долоні і підшви (*рис. 15*). Полушени бляшки: волосиста частина голови, лікті, коліна, сідниці.



Рис. 15. Бленорейна кератодермія

Цирциарний баланс: поверхневі ерозії з фестончастими краями (якщо крайня плоть не обрізана); бляшки, покриті кірками або лусочками, як при псоріазі (якщо крайня плоть обрізана).

Колір ерозії – червоний; ороговілі елементи – жовто-коричневі. Розташування: безладне. Висипання можуть бути мізерними, а можуть бути і рясними, аж до злиття елементів між собою.

Сечівник: серозні або слизово-гнійні виділення.

Порожнина рота: ерозії на язичку, що нагадують географічний язик; фестончаті ерозії на твердому піднебінні.

Очі: легкий двосторонній кон'юнктивіт, іридоцикліт.

Артрит: зазвичай асиметричний олігоартрит (уражено до шести суглобів). Найчастіше страждають колінні, гомілковостопні, плесно-фалангові і міжфалангові суглоби стопи. Набрякання пальців рук і ніг.

Діагноз ставлять на підставі клінічної картини після виключення інших реактивних артритів і спондилоартропатій.

У патогенезі синдрому Рейтера основну роль відіграють два фактори: спадкова схильність (частота виявлення алеля HLA-B27 у хворих з синдромом Рейтера білих людей становить 75 % при нормальній частоті в популяції 8 %) і патогенна мікрофлора кишечника (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella heidelberg*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Campylobacter fetus*, *Shigella flexneri*).

Розрізняють дві форми синдрому Рейтера: спорадичну і епідемічну. Спорадична форма виникає внаслідок інфекцій, що передаються статевим шляхом, і переважає в США і Великобританії; епідемічна форма, яку частіше називають післядизентерійною, обумовлена кишковими інфекціями і переважає в континентальній Європі і Північній Африці.

Класична тріада – артрит, уретрит і кон'юнктивіт – спостерігається лише у 30 % хворих; у 40 % хвороба обмежується одним із проявів (так званий неповний синдром Рейтера). Як правило, через 3–12 міс настає самостійне одужання. Однак у 30 % хворих через багато років виникає рецидив. Хронічний артрит з деформацією суглобів спостерігається в 10–20 % випадків.

Лікування. Антибіотики не впливають на перебіг спорадичного синдрому Рейтера.

ОРНІТОЗ

Хламідіоз, що обумовлений *Chlamydomphila psittaci* (орнітоз, пситакоз).

Орнітоз (синонім – пситакоз) – гостра зоонозна хламідійна природно-осередкова інфекційна хвороба, що характеризується лихоманкою, інтоксикацією, ураженням легень, центральної нервової системи, гепато- і спленоменгальною та іншими системними ураженнями.

Термін "орнітоз" вживають найчастіше в тих випадках, коли джерелом інфекції є птахи, які не відносяться до сімейства папуг, а термін "пситакоз" є кращим родовим терміном, що позначає цю недугу в тих ви-

падках, коли джерелом інфекції є птахи різних сімейств, родів, видів, а також ссавці.

Етіологія. Збудник орнітозу *C. psittaci* має властивості, характерні й для інших хламідій. Характерною особливістю цього роду є нездатність продукувати глікоген. Мають термолабільний і термостабільний антиген. Збудник віднесений до другої групи патогенності.

Збудник орнітозу, на відміну від інших хламідій, здатний до тривалого збереження в навколишньому середовищі: зберігає життєздатність при температурі 37 °С до 2 діб, при 4–6 °С – протягом тижня; після ліофілізації збудник зберігається 5 років і більше.

Резервуар і джерела інфекції. Основними господарями *C. psittaci* є домашні й дикі птахи. У даний час збудник орнітозу виділено більш ніж у 150 видів птахів. Додатковими джерелами хламідій можуть бути інфіковані ектопаразити птахів, а також шури. Дикі птахи заражають домашніх птахів, голубів, що може призвести до виникнення епізоотій у птахівничих господарствах або в ізольованій популяції голубів. Не виключена трансваріальна передача збудників у птахів. Птахи виділяють збудник з фекаліями і носовим секретом. Період контагіозності джерела – тижні й місяці.

Найбільше епідемічне значення мають сільськогосподарські птахи (качки, індички), кімнатні птахи (папуги, хвилясті папужки, канарки та інші дрібні співучі птахи) і особливо міські голуби, зараженість яких становить від 30 до 80 %. Джерелом інфекції для людини також можуть бути сільськогосподарські тварини (вівці, велика рогата худоба, свині), хворі на хламідіоз. Хворі на орнітоз люди не становлять небезпеки для оточуючих.

У птахів захворювання носить назву "орнітоз" (від лат. *ornis* – птах), протікає у вигляді гострої кишкової інфекції чи ураження респіраторної системи і при епізоотичному розповсюдженні призводить до загибелі близько 30–50 % особин, охоплених епізоотією.

Фактори ризику. Придбання кімнатних птахів, які не пройшли ветеринарний огляд; професійна діяльність, пов'язана з інфікованими птахами, тваринами і сировиною, отриманими від них.

Орнітоз широко розповсюджений у всіх країнах світу, що пов'язано з міграцією птахів. Частота захворювань орнітозом на різних територіях неоднакова і залежить від поширення орнітозу серед тварин і птахів у даній місцевості. Часто орнітоз не розпізнається і проходить під діагнозом пневмонії, тим більше що переважають типові пневмонічні форми захворювання. При спеціальному обстеженні на орнітоз у різних країнах (Болгарія, Голландія, США, Німеччина та ін.) встановлено, що 10–20 % гострих пневмоній має орнітозну етіологію.

Найчастіше спостерігаються спорадичні захворювання або невеликі (зазвичай сімейні) спалахи, що, як правило, реєструються в холодну пору року. На спорадичні випадки орнітозу доводиться 95–98 % всіх захворювань.

Сімейні спалахи розвиваються незабаром (через 1–2 тиж) після придбання інфікованих кімнатних птахів. На частку професійних захворювань припадає 2–5 % загальної кількості хворих. Спалахи професійних захворювань зазвичай спостерігаються з травня по вересень, спорадичні захворювання можуть реєструватися в будь-яку пору року. До груп ризику зараження відносяться особи, професійно пов'язані з інфікованими птахами (працівники птахофабрик) і тваринами при окоті, аборті, догляді за худобою і його забої, а також при переробці м'ясної і молочної сировини, шкіри та вовни – тваринники, ветеринарні працівники, працівники м'ясних і молочних виробництв тощо. Від водоплавних птахів частіше заражаються мисливці; голуби і кімнатні птахи – джерела зараження в побутових умовах.

Механізм зараження людей – аспіраційний, фекально-оральний, контактний.

Шляхи і фактори передачі. Заражені тварини виділяють хламідії в зовнішнє середовище з навколоплідними водами, виділеннями із сечостатевої системи, абортів плодами, сечею, фекаліями і молоком. Факторами передачі збудника є екскременти інфікованих птахів, їх носовий слиз, пух і перо. Зараження в більшості випадків відбувається повітряно-пиловим шляхом при вдиханні контамінованого хламідіями пилу (висохлі частинки випорожнень, навколоплідних вод, виділення зі дзьоба, забруднені частки пуху та ін.). Можливе аліментарне зараження людей при вживанні м'ясних і молочних продуктів, що містять хламідії. Аліментарне інфікування відзначено приблизно у 10 % хворих. Також має значення контактний механізм передачі інфекції.

Вхідні ворота – слизові оболонки очей, дихальних шляхів, травного тракту. Хламідії розмножуються в епітелії бронхів і бронхіол, в макрофагах регіонарних лімфовузлів з формуванням вогнищ некрозу з множинними геморагіями навколо. У разі інтенсивного розмноження процес охоплює альвеолярний епітелій. Токсини мікробів і продукти розпаду клітин обумовлюють інтоксикацію. Хламідії потрапляють у кров (бактеріємія), розповсюджуються по організму, уражаючи паренхіматозні органи (печінка, селезінка), центральну нервову і серцево-судинну систему, суглоби. При орнітозі має місце алергізація організму.

Інкубаційний період при орнітозі коливається від 5 до 30 діб (частіше 10–12 діб).

Форми інфекції:

А. Гострий орнітоз:

1. Типові (пневмонічні) форми.
2. Атипові форми:
 - а) менінгопневмонія;
 - б) орнітозний менінгіт;
 - в) орнітоз без ураження легень.
3. Безсимптомна (інапаратна) форма.

Б. Хронічний орнітоз:

1. Хронічна орнітозна пневмонія.
2. Хронічний орнітоз без ураження легень.

В. Посторнітозна хронічна неспецифічна пневмонія.

Імунітет при орнітозі клітинно-гуморальний, нестерильний. Пост-інфекційний імунітет нетривалий, можливі повторні випадки захворювання вже через 0,5–2 роки.

Пневмонічні форми орнітозу починаються гостро: з лихоманки і симптомів загальної інтоксикації, до яких пізніше приєднуються ознаки ураження органів дихання. У більшості хворих температура вище 39 °С, лихоманка, сильний головний біль, біль у м'язах спини і кінцівках, слабкість, можуть бути блювання, носові кровотечі. На 2-4-у добу хвороби приєднуються ознаки ураження легень: сухий кашель, іноді колочий біль у грудях, через 1–3 доби починає виділятися невелика кількість слизового або слизово-гнійного мокротиння, іноді з домішкою крові. Часто уражаються нижні частки легень, частіше права. Рентгенологічно виявляються вогнищеві та сегментарні пневмонії. У кінці 1-го тижня у половини хворих збільшуються печінка і селезінка.

Прояви з боку шлунково-кишкового тракту нерідкі: анорексія, нудота, блювання, запори або проноси, що мають неспецифічний характер. Нервова система уражається майже у всіх хворих і проявляється у вигляді загальнотоксичних симптомів, у важких випадках виражена депресія, можливі марення, сплутаність свідомості, психомоторне збудження; у деяких тяжкохворих з'являються псевдовогнищеві симптоми (короткочасне зниження гостроти зору, анізкорія, ністагм або ністагмоїд), менінгізм. У всіх хворих є більш-менш виражені вегетативні порушення (часто ваготонія). У периферичній крові визначається лейкопенія або нормоцитоз, анезинофілія, лімфопенія; ШОЕ зазвичай збільшена. У сечі на висоті інтоксикації виявляється протеїнурія, іноді гематурія.

Тривалість і виразність окремих симптомів залежать від тяжкості захворювання. При легких формах токсикоз виражений помірно, а лихоманка триває 2–5 діб, при важких вона може тривати до 1 міс. Лихоманка неправильного типу з великими добовими розмахами температури, повторними ознобами і потовиділенням, іноді хвилеподібна. Тривало (при важких формах до 2–3 міс) порушується працездатність, можливі рецидиви і ускладнення (міокардит, тромбофлебії). Іноді захворювання переходить у хронічну форму.

Зустрічаються легкі форми орнітозу, які протікають під маскою грипу або ГРЗ.

При атиповій менінгеальній формі провідними проявами орнітозу є менінгеальні симптоми і розгорнутий синдром інтоксикації. Орнітозний менінгіт – серозний, перебіг його сприятливий. Зустрічається дуже рідко.

Ще рідше на тлі менінгіту з'являються вогнищеві симптоми, парези, паралічі – орнітозний менінгоенцефаліт. Ця форма зустрічається в 1 % хворих.

Іноді орнітозна інфекція набуває хронічного перебігу зі збереженням симптоматики протягом 2–10 років (зустрічається в 10–12 % випадків).

Орнітоз без ураження легень протікає з помірною лихоманкою, болями в горлі, міалгією, збільшенням печінки, а іноді й з порушенням її функцій, збільшенням селезінки. Спостерігається у 3–5 % хворих на орнітоз.

Безсимптомна (субклінічна) форма виявляється при лабораторному обстеженні пацієнтів із вогнища орнітозу. Ускладнення зустрічаються рідко. Можливі параліч голосових зв'язок, парез і тромбофлебіт кінцівок, що ведуть до емболії легеневих судин, поліневрити, енцефаліти, специфічний міокардит, приєднання і генералізація вторинної (частіше стафілококової) інфекції.

Прогноз, як правило, сприятливий при своєчасній діагностиці та адекватній терапії. У літніх хворих, особливо в разі пізнього виявлення інфекції, можливі летальні випадки при різкому порушенні серцевої діяльності в перші 2–4 доби хвороби або при набряку легенів (на 2–3-му тижні захворювання).

При професійних групових захворюваннях діагноз "орнітоз" неважкий. При спорадичних випадках важливий також епідеміологічний анамнез, що виявляє контакт хворого з птахами. Розпізнавання орнітозу проводять на підставі найважливіших клінічних ознак захворювання.

В основі *діагностики* орнітозу лежать імунологічні та молекулярно-генетичні методи дослідження. У зв'язку з відсутністю зростання збудника на живильних середовищах, бактеріологічні дослідження не застосовуються.

Матеріалом для дослідження є сироватка крові, при пневмонії – мокротиння, промивні води бронхів, при позалегеневи формам – біопсійний і аутопсійний матеріал.

Для виявлення антитіл у сироватці крові хворого зазвичай застосовують реакцію зв'язування комплементу (РЗК) – комплементзв'язуючі антитіла з'являються до кінця 2-го тижня захворювання, їх титр збільшується протягом 2–6 тиж і виявляється 1–2 роки і більше, а також реакцію непрямої гемаглютинації (РНГА) з парними сироватками крові хворих, використовуючи стандартний орнітозний антиген (орнітин). Антитіла в цих реакціях починають виявлятися з 10-ї доби хвороби. Діагностичне значення має 4-кратне наростання титру антитіл. Діагностичним титром для РЗК вважають 1:16 – 1:64, для РГГА – 1:512 і вище. Для виявлення антитіл у сироватці крові також можуть використовуватися непряма реакція імунофлуоресценції (НРІФ) і реакція мікроімунофлюоресценції (МІФ).

Внутрішньошкірна проба з орнітином стає позитивною вже на першому тижні інфекції і зберігається більше року, тому її можна використовувати для ранньої і ретроспективної діагностики орнітозу. Внутріш-

ньошкірна проба – вельми чутливий метод розпізнавання орнітозу, але специфічність його невисока: позитивні реакції можливі і при інших хламідіозах, у тому числі респіраторному і урогенітальному хламідіозі.

Найбільш чутливим і специфічним експрес-методом виявлення *C. psittaci*, доступним для практичного застосування, є полімеразна ланцюгова реакція, що дозволяє виявляти ДНК збудника вже з перших днів хвороби.

Культуральний метод виявлення і типування *C. psittaci* вважається найбільш специфічним і чутливим, проте виділення збудника через його високу контагіозність можна проводити тільки в спеціальних лабораторіях. Крім того, культуральні методи дуже трудомісткі, тривалі, вимагають спеціальних умов і підготовки персоналу, внаслідок чого не використовуються в практиці охорони здоров'я.

Лікування. Неускладнені локалізовані форми хламідійної інфекції можна лікувати в амбулаторних умовах у відповідних фахівців (венерологів, дерматологів, гінекологів, інфекціоністів). Генералізовані форми (з ураженням ЦНС, вісцеральних органів та ін.), а також ускладнені форми через серйозність прогнозу підлягають стаціонарному лікуванню. Найбільш ефективні етіотропні засоби в лікуванні орнітозу і генералізованої форми хламідіозу – макроліди в середніх терапевтичних дозах (1000–2000 мг/добу). Можливе застосування антибіотиків тетрациклінового ряду. Тривалість курсу залежить від клінічного ефекту. При лікуванні хламідіозів вибір антибіотиків здійснюють на користь макролідів, оскільки вони, порівняно з тетрациклінами і фторхінолонами, меншою мірою викликають дисбіотичні порушення в шлунково-кишковому і сечостатевому трактах, а також меншою мірою сприяють формуванню персистуючої форми хламідійної інфекції. У тих випадках, коли у хворого є незначні порушення в складі нормофлори кишечника, а у виділених хламідій відзначається резистентність до макролідів, доцільно застосовувати тетрациклін і фторхінолони. При відсутності супутніх хвороб і добру переносність препаратів найбільш ефективними є схеми безперервної антибіотикотерапії. Лікування хворих у таких випадках проводиться протягом 18–21 діб після підготовчого етапу на тлі триваючої бактеріотерапії, ензимотерапії, імунотерапії і фізіотерапії. Оптимальним можна вважати індивідуальне ведення кожного випадку хламідійної інфекції з урахуванням даних культурального визначення чутливості хламідій до антибіотиків. Як засоби патогенетичного лікування проводять дезінтоксикацію, призначають бронхолітики, вітаміни, кисень, протизапальні, антигістамінні й симптоматичні засоби.

Диференційна діагностика. Найбільш важка диференційна діагностика орнітозу від захворювань, обумовлених *C. pneumoniae*, тим більше, що вони мають схожу антигенну структуру, що проявляється в перехресних серологічних реакціях.

Легеневі форми орнітозу необхідно диференціювати від гострих бактеріальних пневмоній (включаючи легіонельоз), туберкульозу легень,

Ку-лихоманки, глибоких мікозів, раку легень, у початковий період – від тифопаратифозних захворювань, бруцельозу, лептоспірозу.

Менінгеальні форми орнітозу слід диференціювати від серозних менінгітів іншої етіології.

Сприйнятливість й імунітет. Природна сприйнятливість людей до орнітозу наближається до 100 %. Хворіють переважно особи середнього та старшого віку, діти хворіють значно рідше.

При гострому орнітозі рівень антитіл у сироватці крові починає знижуватися вже з другого місяця від початку хвороби. У результаті перенесеної гострої інфекції розвивається нестійкий короткочасний імунітет, що обумовлює виникнення повторних захворювань, іноді через короткий проміжок часу (0,5–2 роки). Формується гіперчутливість уповільненого типу.

При хронічних формах антитіла зберігаються протягом декількох років, що пов'язано з тривалістю персистування хламідій в організмі. У цих випадках можна говорити про нестерильний імунітет.

Профілактичні заходи. Профілактика включає комплекс санітарно-ветеринарних заходів у птахівничих господарствах, птахофабриках, тваринницьких підприємствах, фермах, розплідниках, зоопарках; здійснення карантинних заходів при ввезенні в країну з інших територій декоративних і сільськогосподарських птахів. Необхідне регулювання чисельності синантропних птахів (голубів) і обмеження контакту людей з ними.

Хворі на орнітоз мають бути госпіталізовані, за здоровими у вогнищі проводиться медичне спостереження протягом 30 днів. У вогнищі інфекції обов'язкова заключна дезінфекція з використанням 3 % розчину фенолу, хлораміну, лізолу та інших дезінфектантів. Через можливість пізніх рецидивів реконвалесценти орнітозу підлягають диспансерному спостереженню протягом 6 міс і більше (іноді до 3 років).

Специфічної профілактики орнітозу не розроблено.

ПНЕВМОХЛАМІДІОЗ

Пневмохламідіоз – антропонозне інфекційне захворювання з аспіраційним механізмом передачі, яке обумовлене *Chlamydomphila pneumoniae* та характеризується лихоманкою, інтоксикацією з переважним ураженням органів дихання.

Етіологія. У 1983 р. американськими вченими зі змиву носоглотки хворого на ГРЗ був виділений інфекційний агент AR-39, який виявився ідентичним виділеному з кон'юнктиви дитини в 1965 р. на острові Тайвань мікробному агенту TW-183. Надалі цей збудник став іменуватися TWAR (The Taiwan Acute Respiratory agency), був віднесений до хламідій і отримав видову назву *C. pneumoniae*. До цього виду хламідій відносять також штами IOL-127, KA, CWL, проте основну роль у патології людини відіграє штам TWAR.

S. pneumoniae має низку властивостей, загальних для всіх представників родини *Chlamydiaceae*, але має і деякі відмінності. Останні стосуються морфології внутрішньоклітинних включень (грушоподібна форма елементарних тілець, не містять глікогену), а також наявності у *S. pneumoniae* білка 54-Да, який відіграє певну роль у патогенезі захворювання. Антитіла до цього білка, ймовірно, причетні й до формування імунітету.

Збудник виявляє тропізм до епітелію респіраторного тракту і ендотелію судин, бере участь у розвитку фарингітів, трахеобронхітів, ларингітів, тонзилітів, синуситів. Однак найбільшу питому вагу *S. pneumoniae* має у розвитку пневмоній з атипичним перебігом.

Збудник нестійкий у зовнішньому середовищі, високочутливий до дезінфікуючих засобів у звичайних концентраціях, дії фізичних факторів.

Резервуар і джерело інфекції. Єдиним резервуаром пневмохламідіозу є людина. Джерело інфекції – хвора з маніфестною або безсимптомною формою захворювання, реконвалесцент після перенесеної інфекції або здоровий носій *S. pneumoniae*. Найбільше значення в поширенні інфекції мають особи з безсимптомними захворюваннями і бактеріоносії.

Механізм передачі – аспіраційний.

Шляхи і фактори передачі. Збудник виділяється в зовнішнє середовище з виділенням носоглотки при кашлі, чханні, розмові і передається повітряно-крапельним шляхом. Потрапляючи у сприйнятливий організм, збудник уражає слизові оболонки верхніх відділів респіраторного тракту, глотки, придаткових пазух носа.

Фактори ризику. Тривале перебування в організованих колективах, похилий вік.

Прояви епідемічного процесу. Відкриття захворювань, обумовлених *S. pneumoniae*, як і збудника, було пов'язане з розшифровкою епідемічних спалахів пневмоній, які спостерігалися в організованих колективах (інтернати, військові частини) в кінці 70-х – на початку 80-х років ХХ століття у Фінляндії.

Захворювання, пов'язані з *S. pneumoniae*, поширені повсюдно. Пневмохламідіоз реєструється в різних кліматичних зонах: від Фінляндії до Нової Зеландії. Особливо велику актуальність для охорони здоров'я всіх країн становить пневмохламідіоз з ураженням легень. Питома вага пневмохламідіоза в структурі захворювань, що супроводжуються пневмонією, відрізняється в різних країнах і в різний час з великими коливаннями (від 2 до 43 %). Нерідко він набуває характеру епідемії із залученням переважно людей з організованих колективів. Справжня захворюваність населення пневмохламідіозом залишається значною мірою нез'ясованою. Зростання захворюваності на пневмохламідіоз в організованих колективах відзначається кожні 3–6 років.

Інфекція, спричинена *S. pneumoniae*, найбільш часто реєструється у чоловіків середнього та похилого віку, причому інфікування відбувається

в дитинстві або під час служби в армії. Через 10–50 років після первинного інфікування можуть розвинути важкі ускладнення, пов'язані з ураженням судин.

Тривалість інкубаційного періоду точно невідома, але передбачається, що він досить тривалий. Захворювання має повільний початок, протікає з незначно підвищеною температурою, без розвитку лейкоцитозу. Може протікати в гострій і хронічній формах. Клінічні форми гострого захворювання: безсимптомна (латентна), назофарингеальна, пневмонічна. Хронічний процес проявляється в легеневій (bronхіальна астма, хронічний астматичний бронхіт) і серцево-судинній (коронарна хвороба, ендокардит) формах.

Перенесене захворювання не залишає імунітету до повторних заражень.

Діагностика. У зв'язку з тим, що клінічна діагностика пневмохламідіоза становить значні труднощі, велика роль у діагностиці цієї інфекції належить лабораторним методам. В основі лабораторної діагностики лежать серологічні і молекулярно-генетичні методи. Матеріалом для дослідження є сироватка крові хворого, мазки із зіву, носоглотки, носоглоткові змиви, мокротиння, бронхоальвеолярний лаваж. *C. pneumoniae* можна виявити в матеріалі за допомогою РІФ (використовують групові люмінесцентні антитіла) або при мікроскопії мазків, забарвлених за Романовським–Гімзою.

Серодіагностика основана на застосуванні твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА) і більш чутливої реакції мікроімунофлюоресценції. У РЗК *C. pneumoniae* дає перехресні реакції з *C. trachomatis* і *C. psittaci*, але в реакції мікроімунофлюоресценції відмінна від них. Реакція мікроімунофлюоресценції дозволяє також визначати класи антихламідійних антитіл до *C. pneumoniae*. Діагностичне значення має 4-кратне наростання титру антитіл у парних сироватках.

Бактеріологічним методом із мокротиння хламідії виділити важко.

Застосування ПЛР дозволяє уникнути помилок, характерних для серологічних методів дослідження внаслідок перехресних реакцій, а також скоротити час дослідження. ПЛР є високочутливим і високоспецифічним методом діагностики інфекції, викликаной *C. pneumoniae*.

Диференційна діагностика проводиться з ураженням респіраторного тракту іншої етіології. Пневмохламідіоз, що протікає у вигляді ринофарингіту і ринофаринготрахеїту, слід диференціювати з грипом та іншими ГРЗ. Клінічна картина пневмонічної форми пневмохламідіоза має велику схожість із пневмоніями іншої етіології.

Лікування. Етіотропне лікування макролідами або антибіотиками тетрациклінового ряду.

Сприйнятливність й імунітет. Сприйнятливність до інфекції, ймовірно, висока, про що свідчить частота виявлення антитіл до даного збудника серед населення. До 20–30 років на різних територіях антитіла до *C. pneumoniae* виявляються більш ніж у 50 % обстежених. З віком відсоток серопозитивних осіб збільшується.

Профілактичні заходи. Профілактичні заходи спрямовані на обмеження епідеміологічної значущості джерел інфекції, дотримання санітарно-гігієнічного режиму в організованих колективах, правил особистої гігієни, підвищення неспецифічної резистентності організму. Специфічна профілактика не розроблена.

Практичні навички з теми.

1. Проведення мікроскопії мазків-препаратів із хламідіями.
2. Визначення морфотинкторіальних властивостей хламідій.

Алгоритми лабораторної роботи

Алгоритм *"Взяття матеріалу для лабораторної діагностики урогенітального хламідіозу"*.

Якість результату лабораторного дослідження багато в чому залежить від фізіологічного стану пацієнта на момент взяття клінічного матеріалу. Найбільш інформативним може бути матеріал, якщо він отриманий при наступних умовах:

- матеріал взято при наявності клінічних ознак захворювання;
- пацієнт не використовував місцевого лікування мінімум протягом останніх 48–72 год;
- пацієнт не використовував загального лікування антибактеріальними препаратами протягом 7–8 діб до обстеження, тому що проведення системної терапії, особливо антибактеріальними препаратами, може значно вплинути на результат дослідження і знизити його діагностичну цінність;
- у жінок при дослідженні матеріалів з урогенітального тракту взяття зразків бажано проводити після початку менструації на 2–3-й день (якщо захворювання не має явних проявів) або в дні, коли немає кров'яних виділень (при загостренні процесу);
- взяття зразків з уретри у чоловіків і жінок необхідно проводити за умови затримки сечовипускання не менше 2 год;
- при обстеженні пацієнта необхідно брати кілька клінічних зразків для різних лабораторних досліджень.

Якщо немає можливості дотримуватися згаданих умов, то слід пам'ятати, що це може вплинути на якість дослідження і спотворити інтерпретацію результатів.

Важливо пам'ятати, що для діагностики молекулярно-біологічними методами, заснованими на ампліфікації нуклеїнових кислот (МАНК), тампон поміщається в транспортне середовище (середовище 2SP з додаванням антибіотиків, таких, як ванкоміцин, гентаміцин або амфотерицин В).

Для дослідження методом прямої імуофлюоресценції: тампон прокочується по поверхні предметного скла. Бажано використовувати предметні скельця з лунками посередині. На склі повинен бути тонкий шар клінічного матеріалу.

Для культурального дослідження: матеріал збирається в спеціальні пробірки з транспортним середовищем (наприклад, 2SP з додаванням антибіотиків, таких, як ванкоміцин, гентаміцин або амфотерицин В). Тампон поміщається в пробірку, обламується об край пробірки і залишається всередині. Якщо тампон зроблений з нетоксичних матеріалів або не містить речовин-інгібіторів, то його можна також залишати в пробірці для подальшого аналізу МАНК (якщо він запланований).

Способи взяття зразків клінічного матеріалу залежно від анатомічної ділянки або виду матеріалу наведені в *табл. 4*.

Таблиця 4

Способи взяття клінічного матеріалу для діагностики уrogenітальної хламідійної інфекції

Анатомічна ділянка або вид матеріалу	Спосіб взяття матеріалу	Коментарі
Уретра у чоловіків	Тампон ввести в уретру на 1–2 см; трохи покрутити його там (протягом декількох секунд) і вийняти з уретри	Дітям препубертатного віку брати матеріал з уретри не рекомендується; ексудат береться виключно з зовнішнього отвору сечовипускального каналу маленьким тампоном або збирається сеча для дослідження методами визначення ДНК/РНК
Уретра у жінок	При наявності великої кількості виділень зовнішній отвір очистити за допомогою марлевого тампона; ввести тампон в уретру на 1–2 см, трохи покрутити його в уретрі (протягом декількох секунд) і вийняти	Дітям препубертатного віку брати матеріал з уретри не рекомендується; ексудат береться виключно з зовнішнього отвору сечовипускального каналу маленьким тампоном або збирається сеча для дослідження методами визначення ДНК/РНК
Ендоцервікс	Очистити зовнішній отвір цервікального каналу від вагінальних виділень стерильним ватним тампоном або великим марлевым тампоном; ввести тампон в цервікальний канал на 1–2 см, покрутити його в цервікальному каналі протягом 15 с і вийняти	Цервікальні мазки не беруть у дівчаток препубертатного віку. При підозрі на хламідійну інфекцію в цьому віці мазки беруться з піхви через природний отвір гіменального кільця, а також збирається сеча для дослідження
Піхва (взяття зразка самим пацієнтом і у дівчаток препубертатного віку)	Дзеркала не використовують; тампон обережно ввести в піхву, і взяти матеріал з задньої стінки піхви	Вагітні жінки можуть проходити обстеження на хламідії на будь-якому терміні вагітності. Взяття матеріалу проводять з уретри і цервікального каналу. У породіль матеріал беруть з уретри, на 3-й день після пологів – з цервікального каналу. У жінок після екстирпації матки матеріал на <i>C. trachomatis</i> беруть з уретри і піхви

Анатомічна ділянка або вид матеріалу	Спосіб взяття матеріалу	Коментарі
Кон'юнктива	При наявності гнійних виділень їх видаляють стерильним ватним тампоном; відводять нижню повіку і тампон проводять по поверхні кон'юнктиви нижньої повіки у напрямку до внутрішнього кута ока	Процедура іноді буває болючою, тому можна застосовувати місцеві анестетики
Пряма кишка	Тампон вводять на глибину 2–3 см в канал і отримують матеріал з усіх стінок прямої кишки у напрямку зсередини назовні, а потім круговими рухами	Клінічний матеріал з прямої кишки беруть: 1. У пацієнтів, що мали анальний секс або при підозрі на нього. 2. При проявах (суб'єктивних і об'єктивних) проктиту, у тому числі при наявності слизово-гнійних виділень з прямої кишки. Матеріал отримують за допомогою ректоскопа під візуальним контролем (більш ефективний) або ректальних дзеркал, або "сліпим" методом – з анального каналу. При наявності на тампоні видимих калових мас тампон викидають і проводять повторну спробу отримання матеріалу. При використанні ректоскопа ризик контамінації каловими масами нижче і збір матеріалу проводять під контролем очей
Носоглотка	Тампоном проводять по задній стінці глотки вище нижнього краю м'якого піднебіння, а також по поверхні мигдалини	Фарингальні зразки беруть у пацієнтів, що мали оро-генітальний контакт або при підозрі на нього
Сеча	Проводять забір першої порції сечі (перші 10–15 мл) після затримки сечовипускання не менше 2 год	Зразки сечі можна досліджувати неінвазивними методами (наприклад, у дітей) із застосуванням технології МАНК

Алгоритм "Транспортування та зберігання зразків, які використовуються для діагностики уrogenітального хламідіозу".

Хламідії є мікроорганізмами, дуже вимогливими до дотримання належних умов їх транспортування (склад транспортного середовища, температура, при якій здійснюється доставка і зберігання матеріалу, тривалість транспортування і зберігання), тому умови транспортування повинні дотримуватися дуже точно. У разі недотримання правил взяття і умов доставки біологічного матеріалу (розбиті, не промарковані, склені між собою скельця, відсутність матеріалу на склі) зразки не підлягають дослідженню; про це повідомляють лікаря, який направив біологічний матеріал на дослідження; розбите скло підлягає знищенню.

Рекомендації з транспортування і зберігання зразків, які використовуються для проведення різних діагностичних методів для виявлення *C. trachomatis*, наведені в табл. 5.

Таблиця 5

Рекомендації щодо транспортування і зберігання зразків, які використовуються для діагностики уrogenітальної хламідійної інфекції

Метод дослідження	Умови транспортування і зберігання зразків
Молекулярно-біологічний (методи ампліфікації нуклеїнових кислот – МАНК)	Зразки можуть транспортуватися і зберігатися в транспортному середовищі, у середовищі 2SP (з додаванням антибіотиків) або сухими. В інших випадках під час транспортування матеріалу в лабораторію зразки повинні знаходитися в сумці-холодильнику при $+6 \pm 2$ °C. Зразки сечі можуть зберігатися при $+6 \pm 2$ °C протягом одного тижня і їх не треба заморожувати
Імунологічний: пряма імунофлюоресценція (ПІФ)	Скло з мазками клінічного матеріалу для ПІФ необхідно в той же день доставити в лабораторію; мазок може бути фіксований протягом 1–2 хв холодним ацетоном на місці взяття матеріалу, в цьому випадку його можна зберігати при $+6 \pm 2$ °C протягом 3 днів, при 20 °C – протягом 1 міс
Імунологічний: імуноферментний аналіз для визначення антигену хламідій (ІФА)	Матеріал повинен збиратися в спеціальне транспортне середовище, яке до моменту відправки в лабораторію зберігається при $+4 \dots +8$ °C. Якщо час транспортування зскрібка з моменту його взяття до моменту доставки в лабораторію складає більше 2 год, то пробірку необхідно заморозити при -20 °C
Культуральний (культура клітин)	До транспортування матеріал слід помістити в спеціальне транспортне середовище (наприклад, 2SP з додаванням антибіотиків) і зберігати в холодильнику при $+6 \pm 2$ °C і протягом 24 год доставити в лабораторію в сумці-холодильнику. Дослідження вимагає збереження живих хламідій, і зміна температури при транспортуванні може бути вирішальною для отримання достовірного результату. У лабораторії проби зберігаються при $+6 \pm 2$ °C протягом 24 год. У разі необхідності виділену культуру <i>C. trachomatis</i> можна зберігати в середовищі 2SP в низькотемпературній морозильній камері (-70 °C)

Алгоритм "Лабораторна діагностика уrogenітального хламідіозу".

Бактеріоскопічний метод. Взятий для дослідження матеріал розподіляють тонким шаром на поверхні знежиреного предметного скла, підсушують і фіксують. Мазки забарвлюють за Романовським–Гімзою. При фарбуванні за Романовським–Гімзою в зскрібку виявляють цитоплазматичні включення хламідій (тільця Гальбедштедтера–Провачека). Включення містять великі ретикулярні тільця, які фарбуються за Романовським–Гімзою в синій колір, і дрібні елементарні тільця, що забарвлюються в фіолетово-червоний. Включення за кольором і внутрішньою структурою відрізняються від ядра клітини і цитоплазми. Вони розташовуються у виг-

ляді "шапочки" біля ядра. На ранніх стадіях розвитку включення можуть бути 2–5 мкм у діаметрі, зрілі включення збільшуються в розмірах і можуть займати всю цитоплазму, відтісняючи ядро на периферію клітини-хазіяна. Для постановки діагнозу хламідійної інфекції досить виявити одне типове цитоплазматичне включення.

Виявлення антигенів у клінічних зразках. Бактеріоскопічні дослідження передбачають виявлення антигенів хламідій в уражених клітинах (клінічному матеріалі).

У рутинній лабораторній практиці можна використовувати як прямий, так і непрямий імуофлуоресцентний методи. Перший метод передбачає обробку препарату безпосередньо специфічними моно- або поліклональними антитілами, міченими флюоресцеїном, при використанні другого препарат обробляється спочатку імунною сироваткою, що містить немічені антихламідійні антитіла, а потім антивидовою флюоресцюючою сироваткою.

Пряма імуофлуоресценція (ПФ). Принцип методу полягає у виявленні антигенів хламідій у зскрібках урогенітального тракту хворих на урогенітальну хламідійну інфекцію шляхом обробки препаратів міченими флюоресцеїном моноклональними антитілами до родоспецифічних і видоспецифічних антигенів хламідій. Дослідження препаратів здійснюють з використанням люмінесцентного мікроскопа.

Чутливість методу складає 55–76 %, специфічність – близько 98 %.

Метод ПФ відрізняється швидкістю і простотою у виконанні, але все ж він недостатньо чутливий. До позитивних якостей методу належить висока специфічність. Недоліками його є суб'єктивізм оцінки, необхідність проведення кваліфікованого дослідника, який здійснює дослідження препаратів, неможливість автоматизації процесу. Можливі значні розбіжності у виконанні процедури фіксації препаратів, обліку кількості елементарних тілець, необхідних для позитивного висновку про наявність інфекції. Головний недолік методу – його низька чутливість при малих кількостях елементарних тілець у досліджуваному матеріалі. У цих випадках при використанні ПФ зростає кількість помилково негативних результатів. Цей метод розроблений виключно для дослідження клінічних матеріалів, отриманих з уретри або цервікального каналу. Він не придатний для дослідження матеріалів, отриманих неінвазивним способом (сеча, еякулят, виділення піхви).

Для оцінки якості взяття матеріалу переглядають не менше 10 полів зору, використовуючи збільшення люмінесцентного мікроскопа $\times 400$. В одному полі зору мікроскопа повинно бути більше 5 клітин циліндричного епітелію. Критерії, що використовуються для оцінки, включають розмір елементарних тілець (200–300 нм), їх яблуново-зелений колір і правильну округлу форму. Якщо в препараті міститься достатня кількість епітеліальних клітин і видно специфічні флюоресцюючі елементарні тільця (більше 5 елементарних тілець у препараті), результат вважається позитивним.

Форма відповіді лабораторного дослідження на підставі результатів методу ППФ: антиген, специфічний для *C. trachomatis*, виявлено або не виявлено.

Методика обробки препаратів наводиться в інструкціях, що додаються до тест-систем. Висушені на повітрі препарати фіксують охолодженим (4 °С) ацетоном протягом 10 хв, покривають розчином флуоресцентних антитіл (25–50 мкл), інкубують у вологій камері при температурі, зазначеній в інструкції, промивають 2 рази по 5 хв фосфатно-сольовим буфером (NaCl – 6,8 г; KH_2PO_4 – 0,63 г; Na_2HPO_4 – 1,48 г на 1 л дистильованої води, рН 7,2). Після висушування препарат досліджують у люмінесцентному мікроскопі. Для тривалого зберігання або при неможливості перегляду екстрого препарат монтують покривним склом на краплю забуферованого гліцерину (9 частин гліцерину + 1 частина 0,01 Na_2HPO_4 , рН 8,5). Зберігати препарат до перегляду можна в холодильнику при 4 °С терміном до 1 тиж.

Перегляд здійснюють у люмінесцентному мікроскопі зі збудливими фільтрами ФС1-2, БС8-2 і замикаючим фільтром СЗС24-4. При використанні не флуоресцентного імерсійного масла збільшення об'єктива 90×, окуляра 7×. Можна також користуватися водно-імерсійним об'єктивом 60× і окуляром 5×.

Комерційні препарати моно- або поліклональних антитіл зазвичай містять синьку Еванса або родамін, які елімують неспецифічне світіння і забарвлюють цитоплазму клітин у червоний або помаранчевий колір. При перегляді мазків епітеліальних клітин антигени хламідій виявляються на червоному або оранжевому тлі цитоплазми епітеліальних клітин або на темному тлі препарату у вигляді поодиноких яскраво-зелених ЕТ і РТ. Значно рідше зустрічаються внутрішньоклітинні включення у вигляді навколядерних "шапочок" зеленого кольору. Для постановки позитивного діагнозу необхідне виявлення не менше 10 ЕТ або РТ або одного типового внутрішньоклітинного включення.

Імуноферментний аналіз для визначення антигену хламідій (ІФА-АГ). Метод заснований на виявленні в клінічному матеріалі антигенів хламідій шляхом проведення ІФА з використанням моноклональних антихламідійних антитіл встановленої специфічності. Існує ряд доступних комерційних тест-систем для ІФА. Методи тестування варіюють від прямого виявлення антигену до захоплення антигену з використанням або без використання ферментної ампліфікації з метою збільшення чутливості методу.

Чутливість і специфічність методу коливається від 20 до 85 % і залежить від виду тест-системи. У сучасних комерційних тест-системах чутливість ІФА порівняна або трохи вище, ніж у культурального методу, а специфічність адекватна для використання методу в популяції із середньою і високою поширеністю інфекції, наприклад $\geq 5\%$. Чутливість ІФА близька до методу ППФ, однак нижче, ніж у методів, заснованих на ампліфікації нуклеїнових кислот збудника.

Імуноферментний аналіз може бути автоматизований, що дозволяє обробляти велику кількість зразків, відрізняється відносно невисокою вартістю. Недоліки: ІФА заснований на визначенні ліпополісахариду (ЛПС) хламідій, який, як відомо, перехресно реагує з ЛПС інших мікроорганізмів, що може призводити до хибнопозитивних результатів; метод може застосовуватися тільки для матеріалу, отриманого інвазивним способом (зскрібок цервікального каналу шийки матки, уретри).

Візуально позитивні проби набувають кольорового забарвлення; інтенсивність забарвлення прямо пропорційна кількості антигену хламідій. Результат дослідження визначають за допомогою спеціальних ридерів, що дозволяють визначати оптичну щільність зразка при певній довжині хвилі (зазвичай при 492 нм). Зразки, що дають значення оптичної щільності вище або рівні значенням відсікаючого поглинання (cut-off), вважаються позитивними.

Форма відповіді лабораторного дослідження на підставі результатів методу ІФА: антиген, специфічний для *C. trachomatis*, виявлено або не виявлено.

Бактеріологічний метод. Виділення хламідій методом культури клітин зараз рідко використовується для діагностики в Північній Америці і Західній Європі, і не рекомендовано для рутинної діагностики в країнах Східної Європи, за винятком випадків судово-медичної експертизи, випадків сексуального насильства над дітьми або коли культура живих хламідій необхідна для дослідницьких цілей, наприклад для визначення антибіотикорезистентності хламідій *in vitro*.

Переваги методу діагностичного виділення хламідій у культурі клітин полягають у тому, що даний метод забезпечує виділення живого збудника, що є достовірним підтвердженням діагнозу.

Проблема культуральної діагностики уrogenітальної хламідійної інфекції полягає в тому, що для її здійснення необхідне швидке транспортування клінічного матеріалу на холоді (6 ± 2 °C), щоб зберегти життєздатність навіть невеликої кількості хламідій, яке знаходиться в клінічному матеріалі. Більш того, це складна і тривала процедура, для якої немає ані стандартизованих методів, ані поживних середовищ. Крім того, при виконанні культурального дослідження персоналу доводиться постійно працювати з висококонцентрованим інфекційним матеріалом, отриманим у процесі культивування *C. trachomatis*, що пред'являє високі вимоги до біологічної безпеки лабораторій.

Труднощі культуральної діагностики уrogenітальної хламідійної інфекції обумовлені також різноманітними факторами, які можуть чинити негативний вплив на культивування хламідій. Наприклад, застосування гінекологічних лубрикантів, спринцювань сперміцидів, чинить бактеріостатичну і бактеріцидну дію, що може мати негативний вплив на виді-

лення хламідій. Вата, альгінат кальцію, дакрон, що входять до складу тампонів для отримання клінічного матеріалу, можуть бути токсичними для культури клітин і хламідій. Це відбувається через те, що ненасичені жирні кислоти, які знаходяться у ватяних волокнах, які містять хлор, відбілювачі, смолу, що входить до складу дерев'яних паличок, клей, який використовується для з'єднання тампонів зі стрижнями, також можуть бути токсичними для клітинних культур.

Принцип методу. Хламідії не розмножуються на штучних поживних середовищах. Їх паразитизм обумовлений вираженою метаболічною залежністю від клітини господаря. Бактеріологічний метод діагностики заснований на виділенні хламідій із досліджуваного матеріалу шляхом зараження первинних або перещеплюваних клітинних культур. У процесі культивування проводять ідентифікацію збудника і визначення чутливості до антибіотиків. Інфікування жовткових мішків курячих ембріонів і білих мишей у даний час не застосовується в рутинній діагностиці і використовується для ведення лабораторних штамів.

Для виділення хламідій клітини лінії L-929, McCoy або Hela вирощують на покривних скельцях, поміщених у плоскодонні пробірки. Посівна доза клітин – 100 тис. кл/мл середовища. У живильне середовище Ігла або 199 додається 5 % сироватки великої рогатої худоби. Через 24 год культивування клітини повинні давати ріст у вигляді моношару. До інокуляції інфекційного матеріалу клітинний моношар обробляється ДЕАЕ-декстраном (30 мкг/мл) протягом 30 хв. Після інокуляції досліджуваного матеріалу на моношар культуральних клітин (по 0,2 мл у 2 плоскодонні пробірки зі склом, покритим клітинним моношаром) застосовують метод примусової адсорбції – центрифугування при 3 000 об/хв протягом 1 год. Після центрифугування неадсорбований матеріал видаляють, клітини промивають культуральним середовищем без сироватки. Потім клітини поміщають у живильне середовище з додаванням 5 % ембріональної сироватки великої рогатої худоби, 5 % 0,5 М розчину глюкози і з антибіотиком циклогексимідом (0,5–1,0 мкг/мл), що пригнічує синтетичну активність клітини-господаря, подальше культивування проводять протягом 48–72 год при температурі 35,5 °С.

Оцінку результатів проводять через 48–72 год методами ППФ або НІФ (з використанням специфічних полі- і моноклональних антитіл), а також при фарбуванні за Май–Грюнвальд–Гімзою або розчином Люголя. Забарвлюється одне скло.

При отриманні негативних результатів рекомендується провести новий посів (пасаж) матеріалу. З решти пробірки через 72 год після інфікування зливають середовище, скло розтирають у стерильній ступці, додають злите середовище і 1 мл свіжого ростового культурального середовища, що містить 2 % ембріональної сироватки, 1 % глюкози і антибіотик (зас-

вичай – гентаміцин) у підтримуючій концентрації. Інфікування клітинного моношару і оцінку результатів здійснюють за стандартною методикою.

Результати культурального дослідження повинні бути отримані через 48–72 год. Результат вважається позитивним, якщо виявляється хоча б одне хламідійне внутрішньоцитоплазматичне включення і немає причин підозрювати контамінацію іншим позитивним зразком. Якщо така підозра є, дослідження необхідно повторити, використовуючи залишки клінічного матеріалу, крім того, в цьому випадку бажано ще використовувати інший альтернативний діагностичний метод.

Форма відповіді лабораторного дослідження на підставі результатів культурального методу виділення хламідій: *C. trachomatis* виділені або не виділені.

Визначення чутливості хламідій до антибіотиків. Хламідії чутливі до антибіотиків тетрациклінового ряду, макролідів, фторхінолонів. Пеніцилін і його похідні викликають утворення L-подібних форм мікроорганізмів, здатних реверсувати в інфекційні форми після припинення дії антибіотика.

При постановці тесту антибіотикочутливості хламідій матеріал від хворого поміщається в 3 пробірки, що містять моношар чутливих клітин. Через 36 год після звичайної процедури інфікування 1 скло ділиться на 2 частини. Одна частина забарвлюється розчином Люголя, друга – люмінесцентними моноклональними антитілами до хламідій (ПІФ або НІФ).

З решти 2 пробірок через 72 год після інфікування зливають середовище, скло розтирають у стерильній ступці, додають злите середовище, 1 мл свіжого ростового культурального середовища з 2 % ембріональної сироватки, 1 % глюкози і антибіотик. Інфікування клітинного моношару здійснюють за стандартною методикою (1-й пасаж).

Аналогічну процедуру проводять через 72 год після інфікування (2-й пасаж).

У разі виявлення хламідій у другому пасажі заражених клітин культуральну рідину зливають, скло, на яких знаходяться клітини з хламідіями, розтирають у стерильних ступках, матеріал об'єднують з культуральною рідиною і розливають по 0,3 мл у 24 пробірки, що містять покривні скельця з клітинним моношаром. Після звичайної процедури інфікування додається середовище з антибіотиками. Для кожного антибіотика береться мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) і подвійна МІК. Мінімальна інгібуюча концентрація визначається попередньо в дослідах з перещеплюваними штамами *C. trachomatis*. Титрування антибіотиків проводиться на культурі клітин, уражених *C. trachomatis* з множинністю зараження не менше 20 %. Еритроміцин додається в концентрації 50 мкг/мл (МІК) і 100 мкг/мл, ципрофлоксацин – 25 мкг/мл (МІК) і 50 мкг/мл, ломефлоксацин – 20 мкг/мл (МІК) і 40 мкг/мл.

З кожною концентрацією випробуваного антибіотика беруть 2 пробірки позитивного контролю (перещеплований штам *C. trachomatis* з множинністю зараження не менше 20 %) і 2 – негативного контролю з незараженим моношаром чутливих клітин.

Через 72 год після додавання антибіотиків скло з клітинним моношаром фіксують і проводять ПІФ (НІФ) на хламідії і/або забарвлення на наявність глікогену. Відсутність включень при обох концентраціях антибіотика трактується як наявність чутливості до даного препарату. Відсутність включень при подвійній МІК при їх наявності при МІК враховується як слабка чутливість до даного антибіотика.

Серологічні методи діагностики. Методи серологічної діагностики хламідіозу засновані на визначенні специфічних антитіл у сироватці крові, а також в секретах осіб, хворих або тих, що мають хламідіоз в анамнезі. Інтерпретацію результатів серологічного обстеження слід проводити в сукупності з аналізом клініко-епідеміологічних даних, а також з урахуванням особливостей використаного серологічного тесту.

Для серодіагностики в даний час найбільш часто використовують імуноферментний аналіз (ІФА на наявність антитіл). Загальний принцип ІФА-діагностики наступний: антиген фіксується на твердій поверхні, обробляється випробуваною сироваткою, а потім антивидовим імуноглобуліном, зв'язаним з ферментом, що візуалізується після додавання субстрату. Перевагою методу є можливість автоматичного обліку результатів і виявлення класів антитіл - IgG, IgA, IgM. З огляду на низьку імуногенність "урогенітальних штамів" хламідій і можливість наявності антитіл після раніше перенесеної хламідійної інфекції необхідно досліджувати кілька проб сироватки в динаміці захворювання з інтервалом у 2–3 тиж.

Загальноживаним методом серодіагностики є *реакція непрямой імунофлюоресценції* для виявлення антитіл (НІФ). При проведенні НІФ використовуються фіксовані очищені антигени хламідій, нанесені у вигляді точок на скло. Сироватка хворих реагує з антигенами різних серотипів, після чого обробляється антивидовою люмінесцентною сироваткою. Тест чутливий, у багатьох випадках дає інформацію про серотип хламідій і доцільний при епідеміологічних дослідженнях.

В інструкціях колишніх років описується реакція зв'язування комплекменту (РЗК) для серодіагностики хламідіозів, проте в даний час через відносно слабку чутливість РЗК застосовується тільки при діагностиці системного хламідіозу – венеричної лімфогранульоми.

Серологічні тести за визначенням IgG у сироватці крові інформативні при генералізованих формах інфекції, а також у тих випадках, коли інфіковані органи недоступні для безпосереднього дослідження (при інфікуванні *C. pneumoniae*, при інфікуванні органів малого тазу, пневмоніях новонароджених).

При локалізованій урогенітальній інфекції інформативним є вивчення показників місцевого імунітету (в цервікальному секреті у жінок, у соці простати і сімennій плазмі у чоловіків). В останні роки з'являються дані про те, що для чоловічої популяції з хламідійними простатитами кращим маркером є вимір титрів антихламідійних IgA в сімennій плазмі. При обстеженні безплідних пар цей показник більш інформативний, ніж дослідження сироватки крові. Слід мати на увазі, що IgA з'являються в цервікальному секреті жінок і сімennій плазмі чоловіків через деякий час після початку інфекційного процесу, і, отже, ці тести не підходять для діагностики гострого хламідійного інфекційного процесу. Показники місцевого імунітету (IgA в секретах) за значимістю зазвичай збігаються з показниками гуморального імунітету (IgG у сироватці крові) у жінок і статистично достовірно не збігаються у чоловіків, мабуть, внаслідок наявності гематотестикулярного бар'єра.

Серологічні тести не слід використовувати в якості дослідження як контроль вилікування, тому що титр антитіл залишається досить високим протягом декількох місяців після лікування, проте вони добре зарекомендували себе при диференційній діагностиці хламідіозу. Особливо висока цінність цього методу при хронічних безсимптомних формах хламідійної інфекції органів малого тазу (простатити, епідидиміти, сальпінгіти, сальпінгоофорити). Чутливість і специфічність тестів на визначення антитіл до хламідій не менше 95 %.

Методи ампліфікації нуклеїнових кислот. Методи ДНК діагностики засновані на комплементарній взаємодії нуклеїнових кислот, яка дозволяє з високою точністю ідентифікувати послідовність нуклеотидів у генах мікроорганізму. З численних модифікацій даного методу слід виділити полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), яка отримала найбільшого поширення. Метод ПЛР заснований на тому, що в досліджуваній зразок, який імовірно містить той чи інший інфекційний агент, вносяться синтезовані в лабораторії нуклеотидні послідовності (праймери), комплементарні генетичному матеріалу збудника. Такі праймери здатні специфічно взаємодіяти з ДНК або РНК інфекційного агента. Якщо досліджувану пробу піддати температурній обробці, то двоспіральна ДНК, що належить інфекційному агенту, денатурує і стає доступною для взаємодії з двома праймерами, комплементарними певній зоні ДНК або РНК досліджуваного об'єкта. При повторних циклах денатурації і ренатурації нуклеїнових кислот зразка в певних умовах (вміст у реакційній суміші дезоксинуклеотидтрифосфатів і термофільної ДНК полімерази) досягається виборче розмноження (ампліфікація) ділянки нуклеїнової кислоти певного розміру, який задається при виборі праймерів. Цей метод широко використовується для прямої детекції різного генетичного матеріалу вірусної і бактеріальної природи.

Лігазна ланцюгова реакція – це другий метод ампліфікації ДНК. В основі методу лежить лігування (зшивання) олігонуклеотидів, певних

комплементарних ділянок ДНК мішені. У методі використовується здатність ДНК-лігази з'єднувати дві пари комплементарних олігонуклеотидів після їх гібридизації з геномною ДНК мішені *in vitro*. За своїми характеристиками цей метод можна порівняти з ПЛР.

ПЛР складається з 3 основних процедур: підготовки досліджуваної проби матеріалу, яка в більшості випадків зводиться до ізоляції нуклеїнової кислоти, власне ПЛР і детекції продукту ПЛР (ампліфікованої ДНК або РНК). Методика постановки реакції надається у відповідних методичних рекомендаціях.

Підготовка проби матеріалу повинна проводитися в умовах, що виключають хибнопозитивні результати через перехресне забруднення досліджуваних проб.

При діагностиці хламідіозу методами ампліфікації нуклеїнових кислот підходить матеріал будь-якого тканинного генезу. Великою перевагою методів ампліфікації нуклеїнових кислот є можливість діагностики "неінвазивним" способом – дослідження першої порції ранкової сечі, що може застосовуватися для скринінгу великих груп населення. Слід зазначити, що дослідження ранкової сечі більш чутливе при обстеженні чоловіків, для жінок перевага віддається дослідженню цервікальних зразків.

Визначення нуклеїнових кислот хламідій не повинне застосовуватися при контролі лікування, тому що фрагменти нуклеїнових кислот нежиттєздатних бактерій можуть визначатися протягом декількох місяців після проведеного лікування. Як згадувалося вище, при контролі лікування слід застосовувати метод культуральної діагностики.

Перевагою ПЛР є можливість визначення широкого спектра збудників в одному клінічному зразку. Для цього отриманий препарат розподіляється на рівні порції, кількість яких дорівнює кількості інфекційних агентів, що визначаються. У кожную з порцій вноситься реакційна суміш і специфічний набір праймерів для кожної з пошукових інфекцій. Таким чином, можна отримати "мікробіологічний паспорт", тобто повні відомості про наявність всіх збудників у досліджуваній клінічній пробі.

Чутливість ПЛР і ЛЛР може досягати математично можливої межі (детекція 1 копії ДНК-матриці).

У той же час слід мати на увазі, що само по собі використання методу молекулярно-біологічної діагностики не є гарантією від отримання помилкових результатів. Висока чутливість методу обумовлює необхідність строгого дотримання спеціальних вимог до режиму роботи ПЛР-генодіагностичної лабораторії.

Термінологія. Родина: *Chlamydiaceae*, *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Waddliaceae*.

Роди: *Chlamydia*, *Chlamydomphila*.

Види: *C. trachomatis*, *C. pneumonia*, *C. psittaci*, *C. muridarum*, *C. suis*, *C. abortus*, *C. felis*, *C. caviae*, *C. pecorum*, *P. acanthamoebae*, *S. negevensis*, *W. chondrophila*.

Запитання для контролю знань.

1. Загальна характеристика хламідій. Морфологія, біологічні властивості. Класифікація.
2. Патогенез, клінічні прояви хламідіозів. Імунітет.
3. Правила відбору матеріалу для лабораторного дослідження. Лабораторна діагностика хламідіозів.
4. Специфічна профілактика і лікування.

Тестові завдання

1. Через 5 днів після купання в басейні у пацієнта виявили захворювання очей, що виражається потовщенням кон'юнктиви і яскраво-червоним забарвленням нижнього склепіння. У мазку, виготовленому з виділень кон'юнктиви, виявили включення в уражених клітинах. Який збудник викликав кон'юнктивіт зі включеннями?
A. *Chlamydia trachomatis*. D. *Neisseria gonorrhoeae*.
B. *Chlamydophila pneumoniae*. E. *Adenovirus*.
C. *Staphylococcus aureus*.
2. Укажіть умови, яких слід дотримуватися при транспортуванні патогенного матеріалу від хворого з підозрою на хламідіоз.
A. Доставка матеріалу при $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$.
B. Доставка матеріалу при низькій температурі.
C. Доставка тільки посіяного матеріалу.
D. Матеріал заморозжують з подальшим розморожуванням.
E. Правильні відповіді A і C.
3. У пацієнта з простатитом були виділені *C. trachomatis*. У яких з наведених нижче тест-системах культивується цей збудник?
A. На кров'яному агарі. D. На середовищі 199.
B. У культурах тканин. E. На сироватковому агарі.
C. На згорнутої сироватці.
4. Який найбільш інформативний метод лабораторної діагностики орнітозу?
A. Виділення збудника на штучних поживних середовищах і його ідентифікація.
B. РЗК із сироваткою крові хворого.
C. РА з сироваткою крові хворого.
D. Виділення збудника на культурі клітин і його ідентифікація.
E. Виділення збудника на курячому ембріоні і його ідентифікація.
5. При мікроскопії зскрібка з уретри, зафарбованого методом Романовського–Гімзи були виявлені ретикулярні та елементарні тільця. Який мікроорганізм зміг їх утворити?
A. *Chlamydia trachomatis*. D. *Neisseria gonorrhoeae*.
B. *Chlamydophila pneumoniae*. E. *Staphylococcus aureus*.
C. *Chlamydophila psittassi*.

6. Хворому з симптомами лихоманки, головного болю був поставлений діагноз "атипова пневмонія". Із анамнезу відомо, що він утримує курей і 2 тиж тому значна їх кількість померла від невідомої хвороби. Який найбільш вірогідний діагноз?

A. Сибірка.

D. Орнітоз.

B. Лептоспіроз.

E. Поворотний тиф.

C. Черевний тиф.

Література

Основна

1. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов. – Москва : Медицина, 2001. – 721 с.

2. Воробьев А. А. Медицинская и санитарная микробиология : учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В. П. Ширококов. – Москва : Издательский центр "Академия", 2003. – 464 с.

3. Микробиология / И. Л. Дикий, И. Ю. Холупяк, Н. Е. Шевелева, М. Ю. Стегний. – Харьков : Прапор, изд. УкрФА, 1999. – 413 с.

4. П'яткін К. Д. Мікробіологія з вірусологією та імунологією / К. Д. П'яткін, Ю. С. Кривошеїн. – Київ : Вища шк., 1992. – 431 с.

5. Ситнік І. О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія / І. О. Ситнік, С. І. Климнюк, М. С. Творко. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 392 с.

Додаткова

1. Гранитов В. М. Хламидиозы / В. М. Гранитов. – Москва : Медицинская книга; Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2000. – 197 с.

2. Коротяев А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учеб. для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабычев. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2008. – 767 с.

3. Лобзин Ю. В. Хламидийные инфекции. Диагностика, клиника, лечение, реабилитация / Ю. В. Лобзин, А. Л. Позняк, С. Н. Сидорчук. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2010. – 483 с.

4. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів / за ред. В. П. Ширококова. – 2-е вид. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 952 с.

5. Медицинская микробиология / под ред. В. И. Покровского. – Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 768 с.

6. Медицинская микробиология / под ред. А. М. Королюка и В. Б. Сбойчакова. – Санкт-Петербург, 2002. – 267 с.

7. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. по дисциплине "Микробиология, вирусология и иммунология" для студентов учреждений высш. проф. образования / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 480 с.

8. Молочков В. А. Урогенитальный хламидиоз / В. А. Молочков. – Москва : Бином, 2006. – 208 с.

9. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / под ред. В. В. Теца. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2002. – 352 с.

10. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: [учебное пособие] / под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ещиной. – Москва : ОАО "Издательство медицина", 2005. – 600 с.

11. Инфекционные болезни и эпидемиология / В. И. Покровский, С. Г. Пак, Н. И. Брико, Б. К. Данилкин. – 2-е изд. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 814 с.

12. Конспект лекций.

Навчальне видання

ХЛАМІДІЇ

**Методичні вказівки з дисципліни
"Мікробіологія, вірусологія та імунологія
з мікробіологічною діагностикою"
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю
"Технології медичної діагностики та лікування"**

Упорядники Мішина Марина Митрофанівна
 Замазій Тетяна Миколаївна
 Коваленко Наталія Іллівна

Відповідальний за випуск

М. М. Мішина

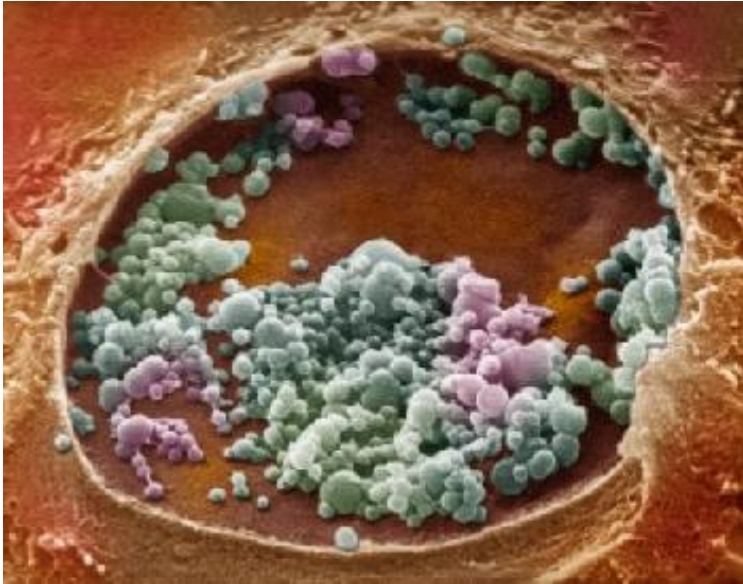


Редактор М. В. Тарасенко
Коректор Є. В. Рубцова
Комп'ютерна верстка О. Ю. Лавриненко
Комп'ютерний набір Т. М. Замазій

Формат А 5. Ум. друк. арк.3,8. Зам. № 17-33492

Редакційно-видавничий відділ
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022
izdatknmu@gmail.com

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництв, виготовників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008 р.



ХЛАМІДІЇ

***Методичні вказівки з дисципліни
"Мікробіологія, вірусологія та імунологія
з мікробіологічною діагностикою"
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю
"Технології медичної діагностики
та лікування"***