

**ОПИСАНИЕ  
ИЗОБРЕТЕНИЯ  
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **12875**

(13) **С1**

(46) **2010.02.28**

(51) МПК (2009)  
**G 01N 33/53**

(54) **СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ЛАТЕНТНОЙ ФОРМЫ ХЛАМИДИОЗА  
ПРИ ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНОМ БЕСПЛОДИИ**

(21) Номер заявки: а 20071074

(22) 2007.08.30

(43) 2009.04.30

(71) Заявитель: Учреждение образования  
"Гомельский государственный ме-  
дицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Лызикова Юлия Анатоль-  
евна; Лызиков Анатолий Николае-  
вич; Барановская Елена Игоревна  
(ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение об-  
разования "Гомельский государст-  
венный медицинский университет"  
(ВУ)

(56) КЛИНЫШКОВА Т.В. и др. Россий-  
ский вестник акушера-гинеколога.-  
2002.- Т. 2.- № 5.- С. 31-34.

RU 2222018 С1, 2004.

RU 95102188 А1, 1996.

КУРМАНОВА А.М. Совершенствова-  
ние диагностики и лечения урогени-  
тального хламидиоза у женщин:  
Автореф. дис.- Алматы, 1999.- С. 9-11,  
21-23.

КАЛЛАУР И.Л. и др. Теоретические и  
практические вопросы медицины и  
фармации. Материалы конференции  
студентов и молодых ученых.- Ви-  
тебск, 2000.- С. 94-96.

(57)

Способ диагностики латентной формы хламидиоза при трубно-перитонеальном бесплодии, заключающийся в том, что определяют в сыворотке крови наличие антител к белку теплового шока хламидий и проводят электронную микроскопию биоптата маточной трубы, и при выявлении антител к белку теплового шока хламидий и визуализации ретикулярных телец хламидий в биоптате диагностируют латентную форму хламидиоза.

Изобретение относится к области медицины, в частности к гинекологии, и может быть использовано для выявления латентной формы хламидиоза у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием.

Известны способы диагностики хламидиоза с использованием иммунофлюоресценции, полимеразной цепной реакции, иммуноферментного анализа и способ обнаружения хламидий в культуре клеток.

Известен способ обнаружения хламидий в соскобе из цервикального канала пациентки, когда возбудитель заболевания выделяют в культуре клеток, обработанной различными метаболитами. Данный способ наиболее трудоемок и длителен в исполнении (до 7 дней). Чувствительность культурального исследования не превышает 60-80 %, сопутствующая инфекция приводит к снижению чувствительности с 80 до 40 %. Для диагностики персистирующей формы хламидиоза данный способ неприменим, так как в одном пассаже в культуре клеток персистирующие хламидии не выделяются вследствие неинфекционности и непродуктивности включений. Способ является дорогостоящим.

**ВУ 12875 С1 2010.02.28**

Известен способ диагностики с использованием иммунофлюоресценции, когда выявляют антигены хламидий в мазке из цервикального канала пациентки при люминесцентной микроскопии. Данный способ является скрининговым, обладает низкой чувствительностью и специфичностью. Методика требует высокой квалификации лабораторного работника, является субъективной. Способ диагностики с использованием иммунофлюоресценции основан на обнаружении светящихся комплексов антигена возбудителя (липополисахарид и основной белок наружной мембраны), находящихся на поверхности элементарных телец хламидий. При персистенции продукция этих структур блокирована, поэтому метод нельзя использовать для обнаружения персистирующей формы инфекции [1].

Известен способ диагностики хламидиоза с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР-анализ). Способ заключается в определении наличия ДНК хламидий в соскобах из цервикального канала. Полученный в результате амплификации генный материал идентифицируют с помощью электрофореза в геле с окраской бромистым этидием. Качество диагностики зависит от правильности взятия материала, при его использовании получают ложноотрицательные результаты за счет присутствия в образце различных ингибиторов, нельзя использовать данный способ диагностики в качестве критерия излеченности хламидиоза. В случае персистирующей хламидийной инфекции возбудитель находится субэпителиально и не попадает в пробу даже при взятии материала из маточных труб. Местом персистенции является не постоянно обновляющийся эпителиальный слой слизистой, а субэпителиальные ткани, куда *Chlamydia trachomatis* проникает в профессиональных фагоцитах, где и продолжает персистировать [3].

Известен способ диагностики хламидиоза, позволяющий визуализировать хламидий с применением электронной микроскопии. Это дает возможность исследовать организацию бактерий на макромолекулярном уровне. Образец мазка фиксируют глутамаральдегидом, затем обезвоживают и заливают пластмассой, при помощи микротомов получают срезы тканей толщиной до 30 нм. Для диагностики хламидиоза с использованием данного способа используют мазок из цервикального канала, хотя возбудитель при трубном бесплодии чаще находится в маточных трубах.

Наиболее близким к предлагаемому способу является иммуноферментный анализ (ИФА) - способ диагностики хламидиоза, с помощью которого определяют антихламидийные антитела классов IgG, IgA, IgM в сыворотке крови у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием. Недостатком прототипа является вероятность получения ложноположительных результатов за счет того, что антитела к липополисахаридному антигену *Chlamydia trachomatis* перекрестно реагируют с липополисахаридами других грамотрицательных бактерий [2]. В условиях персистенции возбудитель слабо индуцирует выработку нового поколения антител и их нельзя обнаружить тест-системами из-за низкой концентрации.

При положительном результате двух любых тестов диагностируют хламидийную инфекцию, при отрицательном результате предполагают отсутствие хламидийной инфекции.

Задачей изобретения является разработка универсального, достоверного, высокоинформативного способа диагностики латентной формы хламидиоза при трубно-перитонеальном бесплодии.

Задача решается за счет того, что способ диагностики латентной формы хламидиоза при трубно-перитонеальном бесплодии заключается в том, что определяют в сыворотке крови наличие антител к белку теплового шока хламидий и проводят электронную микроскопию биоптата маточной трубы, и при выявлении антител к белку теплового шока хламидий и визуализации ретикулярных телец хламидий в биоптате диагностируют латентную форму хламидиоза.

Использование для диагностики биопсийного материала позволяет выявить возбудитель в очаге поражения, не доступном при обычном исследовании. Забор материала ма-

точной трубы осуществляется во время операции, не причиняет неудобств женщине, малотравматичен, высокоинформативен.

Отмечено достоверно более частое обнаружение антител класса IgG к белку теплового шока хламидий у женщин с трубным бесплодием по сравнению с фертильными женщинами ( $p < 0,005$ ). При этом в половине случаев у женщин были отрицательные результаты всех способов лабораторной диагностики хламидиоза.

Возбудитель хламидийной инфекции может находиться в двух формах: элементарное и ретикулярное тельца, которые переходят одно в другое. В случае персистенции цикл развития останавливается на стадии ретикулярного тельца. Синтез белков наружной мембраны при персистенции блокирован, возбудитель усиленно синтезирует белок теплового шока. Поэтому при персистенции целесообразно выявлять антитела не к общему липополисахариду клеточной стенки, а к белку теплового шока хламидий. Обнаружение самого возбудителя в состоянии персистенции невозможно стандартными методами, поэтому следует исследовать материал пораженного органа с использованием электронной микроскопии, позволяющей достоверно определить форму существования микроорганизма.

### **Пример 1.**

Пациентка Ч., 27 лет. Жалоб при поступлении не предъявляет. Бесплодие первичное, в течение 4 лет. Обследуется по поводу бесплодия в течение 2,5 лет. При проведении метросальпингографии диагностирована окклюзия обеих маточных труб в ампулярных отделах. Муж обследован: здоров. Менструальная функция без особенностей. Из перенесенных заболеваний отмечает простудные. Из гинекологических заболеваний отмечает хронический сальпингоофорит, обострения один раз в год.

Данные объективного обследования без особенностей. Ультразвуковое исследование органов малого таза: без особенностей. Диагноз: Хронический двусторонний сальпингоофорит, стадия ремиссии. Бесплодие первичное. Произведена диагностика хламидийной инфекции с применением иммуноферментного анализа, полимеразной цепной реакции. Результаты: иммуноферментный анализ - антитела классов IgG, IgA, Ig M к *Chlamydia trachomatis* не обнаружены; полимеразная цепная реакция - ДНК *Chlamydia trachomatis* не обнаружена.

Учитывая клинику трубно-перитонеального бесплодия, решено обследовать женщину с целью выявления антител к белку теплового шока хламидий в сыворотке крови. Результат: антитела класса IgG к белку теплового шока хламидий с молекулярной массой 60 кДа обнаружены.

Пациентке произведена лечебно-диагностическая лапароскопия с целью лечения бесплодия. Во время лапароскопии обнаружено: Матка кпереди, нормальных размеров, отклонена кпереди, подвижна. Оба яичника не визуализируются из-за спаечного процесса между широкой связкой матки, маточными трубами. Обе маточные трубы бледно-розового цвета, извиты, в области ампулярных отделов рубцово-спаечный процесс, спаяны с яичниками. В позадиматочном пространстве - спаечный процесс, переднематочное пространство без особенностей. Перигепатит. Спайки разделены тупым и острым путем, гемостаз. После рассечения спаек определились нормальных размеров яичники. Острым путем устранен спаечный процесс в области фимбрий, вход в трубы расширен механически. Брюшная полость промыта физиологическим раствором. Контроль гемостаза. При хромосальпингографии контраст свободно поступил через обе маточные трубы. Лапароскопический диагноз: Хронический двусторонний сальпингоофорит, периаднексит, перигепатит. Бесплодие первичное.

Оперативное вмешательство: Лапароскопия. Сальпингоовариолизис. Фимбриопластика. Хромосальпингография. Во время лапароскопии произведена микробиопсия маточной трубы. С помощью электронной микроскопии в материале маточной трубы выявлены гигантские ретикулярные тельца хламидий с расширенным периплазматическим пространством.

Учитывая обнаружение антител класса IgG к белку теплового шока с молекулярной массой 60 кДа, ретикулярных телец в ткани маточной трубы, диагностирована персистирующая форма хламидийной инфекции.

### Пример 2.

Пациентка Б., 29 лет. Жалоб не предъявляет. Бесплодие вторичное, в течение 5 лет. Обследуется по поводу бесплодия в течение 3 лет. При проведении метросальпингографии диагностирована окклюзия правой маточной трубы в ампулярном отделе, левой - в интерстициальном. Муж обследован: здоров. Менструальная функция без особенностей. Роды в 2000 году, в срок, без особенностей. Из перенесенных заболеваний отмечает простудные, аппендэктомия в 2001 году. Из гинекологических заболеваний отмечает хронический сальпингоофорит, обострения один раз в 1,5-2 года. Данные объективного обследования без особенностей. Ультразвуковое исследование органов малого таза: без особенностей.

Диагноз: Хронический двусторонний сальпингоофорит, стадия ремиссии. Бесплодие вторичное. Произведена диагностика хламидийной инфекции с применением иммуноферментного анализа, полимеразной цепной реакции. Результаты: иммуноферментный анализ - антитела классов IgG, IgA, Ig M к *Chlamydia trachomatis* не обнаружены; полимеразная цепная реакция - ДНК *Chlamydia trachomatis* не обнаружена.

Учитывая клинику трубно-перитонеального бесплодия, решено обследовать женщину с целью выявления антител к белку теплового шока хламидий в сыворотке крови.

Результат: антитела класса IgG к белку теплового шока хламидий с молекулярной массой 60 кДа не обнаружены. Пациентке произведена лечебно-диагностическая лапароскопия с целью лечения бесплодия. Протокол лапароскопии: Матка кпереди, нормальных размеров, отклонена кпереди, гладкая, подвижная. Обе маточные трубы бледно-розового цвета, извиты, в области фимбрий спаечный процесс. Оба яичника нормальной величины и структуры, в правом - зреющий фолликул. В позадматочном пространстве спаечный процесс. Кишечник, сальник, печень без особенностей. Спайки разведены тупым путем, вход в трубы расширен механически. В позадматочном пространстве спайки разделены острым путем. При хромосальпингоскопии контраст поступил в брюшную полость через обе маточные трубы. Контроль гемостаза. Брюшная полость промыта физиологическим раствором.

Диагноз: Хронический двусторонний сальпингоофорит. Бесплодие вторичное. Оперативное вмешательство: Лапароскопия. Фимбриолизис. Адгезиолизис. Хромосальпингоскопия. Учитывая отрицательные результаты диагностики хламидиоза методами полимеразной цепной реакции, иммуноферментного анализа, отсутствие антител класса IgG к белку теплового шока хламидий с молекулярной массой 60 кДа, биопсия фимбрий не производилась.

Предлагаемый способ диагностики хламидиоза при трубно-перитонеальном бесплодии позволяет выявить как манифестную, так и скрытую форму инфекции. С помощью данного способа с высокой степенью достоверности и информативности диагностируется персистирующая форма хламидиоза, не выявляемая другими способами диагностики. При этом становится возможным не только диагностировать скрытую инфекцию, но и визуализировать форму существования возбудителя. Получение отрицательных результатов при использовании данного способа диагностики позволяет достоверно исключить хламидийную инфекцию.

Источники информации:

1. Сидорович С.Ю. и др. Сравнительный анализ методов лабораторной диагностики урогенитального хламидиоза // Вестник дерматологии и венерологии. - 2001. - № 1. - С. 9-10.

## **ВУ 12875 С1 2010.02.28**

2. Брагина Е.Е., Орлова О.Е, Дмитриев Г.А. Некоторые особенности жизненного цикла хламидий. Атипичные формы существования (обзор литературы) // ЗППП. - 1998. -№ 1. - С. 3-9.

3. Клинышкова Т.В. и др. Роль генитальной хламидийной инфекции в генезе трубного бесплодия // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2002. - Т. 2. - № 5. - С. 31-34.