

ХЛАМИДИЯ ТРАХОМАТИС

Набор реагентов для выявления ДНК
Хламидии трахоматис

ИНФЕКЦИИ, ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ. CHLAMYDIA TRACHOMATIS

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК ХЛАМИДИИ ТРАХОМАТИС
(CHLAMYDIA TRACHOMATIS) МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ
РЕАКЦИИ (ПЦР) (ХЛАМИ-ГЕН).
№ФСР 2008/03890



Урогенитальный хламидиоз (УГХ) относится к инфекциям, передающимся половым путем. УГХ – широко распространенное заболевание: ежегодно в мире регистрируется около 90 млн. случаев заболевания, из них на долю РФ приходится 1,5 млн.

7 декабря 1993 г. Министерством здравоохранения РФ был издан Приказ 286 «О совершенствовании контроля за заболеваниями, передающимися половым путем (ЗППП)». Значительное место в нем отведено проблеме хламидийной инфекции, которая, наряду с сифилисом и гонореей, стала приоритетной при проведении комплекса противоэпидемических, организационных и лечебных мероприятий. Регистрация хламидиоза в России началась с 1994 г., и офици-

циальные статистические данные свидетельствуют о **ежегодном удвоении** числа случаев впервые установленного диагноза хламидийной инфекции.

C. trachomatis вызывает преимущественно антропонозные хламидиозы, являясь возбудителем венерической гранулемы, sporadических заболеваний глаз (паратрахома, конъюнктивит новорожденных и взрослых), урогенитального хламидиоза, некоторых форм артрита.

C. trachomatis – высококонтагиозная грамотрицательная бактерия– облигатный внутриклеточный паразит. Обладает выраженным тропизмом к цилиндрическому эпителию, реже к многослойному плоскому, моноцитам.

Уникальный цикл развития патогена включает в себя две формы существования: *внеклеточная форма* – инфекционные метаболически неактивные *элементарные тельца* и вегетативная неинфекционная форма – *внутриклеточные ретикулярные тельца*.

Заболевания, вызванные *C. trachomatis*, могут протекать как манифестированная форма с клиническими симптомами и в виде персистирующей и латентной инфекции. Это значительно затрудняет диагностику и требует комплексного подхода. Следствием ошибочной диагностики может стать назначение неадекватной терапии.

УГХ подразделяют на:

- ❖ **острый хламидиоз** (неосложненный хламидиоз нижних отделов мочеполового тракта) – характеризуется обильными слизисто-гнойными выделениями, гиперемией, отеком слизистой оболочки, дизурическими расстройствами, болевым синдромом в области малого таза;
- ❖ **хронический хламидиоз** (длительно текущий, рецидивирующий, персистирующий хламидиоз верхних отделов мочеполового тракта, включая органы малого таза) – характеризуется менее выраженными, чем при остром хламидиозе, клиническими симптомами или отсутствием клинических проявлений).

Наиболее частыми клиническими проявлениями УГХ являются:

- ❖ острый уретральный синдром;
- ❖ бартолинит;
- ❖ цервицит;
- ❖ воспалительные заболевания органов малого таза;
- ❖ эпидидимит;
- ❖ конъюнктивит;
- ❖ пельвиоперитонит и т.д.

Грозным осложнением хламидиоза является бесплодие.

Урогенитальный хламидиоз на современном этапе характеризуется отсутствием патогномичных специфических симптомов, стертыми клиническими проявлениями, многоочаговостью инфицирования, что представляет значительные трудности для клинической диагностики и, соответственно, своевременной адекватной терапии. Длительное малосимптомное течение заболевания значительно повышает риск развития осложнений с нарушением репродуктивной функции. Следует отметить, что УГХ как моноинфекция практически не встречается, в подавляющем большинстве случаев регистрируется смешанная инфекция урогенитального тракта. Таким образом, особую важность приобретает лабораторная диагностика хламидийной инфекции.

Обследованию на хламидийную инфекцию подлежат:

- ❖ лица, имевшие половой контакт с больными урогенитальным хламидиозом;
- ❖ лица, проходящие обследование на ИППП;
- ❖ женщины, имеющие слизисто-гнойные выделения из канала шейки матки, симптомы аднексита, бесплодие, невынашивание беременности;
- ❖ новорожденные от матерей, перенесших хламидийную инфекцию во время беременности;
- ❖ мужчины со слизисто-гнойными выделениями из уретры, симптомами дизурии;
- ❖ беременные;
- ❖ женщины, которым предстоит оперативное вмешательство на органах малого таза;
- ❖ доноры спермы и яичек;
- ❖ лица, подвергшиеся сексуальному насилию;
- ❖ лица с реактивным артритом;
- ❖ лица с подозрением на атипичную пневмонию.

Классификация по МКБ-10

A56 Другие хламидийные болезни, передающиеся половым путем.

A56.0 Хламидийные инфекции нижних отделов мочеполового тракта.

A56.1 Хламидийные инфекции органов малого таза и других мочеполовых органов.

A56.2 Хламидийная инфекция мочеполового тракта неуточненная.

A56.3 Хламидийная инфекция аноректальной области.

A56.4 Хламидийный фарингит.

A56.8 Хламидийные инфекции, передающиеся половым путем, другой локализации.

Методы лабораторной диагностики:

Лабораторная диагностика хламидийной инфекции включает косвенные методы, свидетельствующие о реакции организма на возбудитель инфекции, и прямые методы, направленные на обнаружение самого возбудителя.

Косвенные методы:

серологические исследования – иммуноферментный анализ (ИФА), реакция связывания комплемента (РСК) и др. – определение специфических антител к *S. trachomatis* в сыворотке крови, биологических жидкостях пациентов. Метод не используется для контроля излеченности. Чувствительность и специфичность метода – 95 %.

Прямые методы:

методы экспресс-диагностики – иммунохроматографический и ферментспецифический тесты.

Иммунохроматографический тест основан на образовании комплекса антиген-антитело – цветной латекс, формирующий окрашенную зону на нитроцеллюлозном фильтре.

Ферментспецифический тест основан на расщеплении субстрата хламидий и пурпурном окрашивании под действием хромогена.

Методы обладают относительно низкой чувствительностью, но просты в исполнении, что позволяет использовать их в отсутствие централизованных лабораторий и при эпидемиологических исследованиях.

- ❖ **Микроскопическое исследование** – выявление морфологических структур *S. trachomatis* в пораженных клетках. Чувствительность – при УГХ – 10–20 %, при конъюнктивите новорожденных – 100 %.
- ❖ **Культуральная диагностика** – выделение хламидий из исследуемого материала путем заражения клеточных культур. Метод не используется в период антибиотикотерапии и через 1 месяц после прекращения терапии. Чувствительность 75–95 %, специфичность 100 %.
- ❖ **Метод люминисцирующих антител** – прямая иммунофлуоресценция (ПИФ) и непрямая иммунофлуоресценция (НИФ) – выявление антигенов хламидий в клиническом образце. Чувствительность – 60–75 %, специфичность метода – 98 %. Контроль излеченности проводят не ранее чем через 3–4 недели после приема антибактериальных препаратов.
- ❖ **ДНК-диагностика.** Основным методом ДНК-диагностики является **метод ПЦР**, который характеризуется высокой чувствительностью (98–100 %) и специфичностью (100 %).

В соответствии с Рекомендациями Центра по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Европейским руководством по ведению пациентов с инфекцией, вызванной *S. trachomatis*, и Протоколами ведения больных «Инфекциями, передаваемыми половым путем», только ПЦР-диагностика может быть рекомендована для обнаружения *S. trachomatis*.

Согласно Клиническим рекомендациям по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями, сформулированным Российским обществом дерматовенерологов и косметологов (РОДВК) в 2012 г., верификация диагноза хламидийной инфекции базируется на результатах лабораторных исследований с помощью одного из следующих методов:

- ❖ молекулярно-биологических, направленных на обнаружение специфических фрагментов ДНК и/или РНК *S. trachomatis*, с использованием тест-систем, разрешенных к медицинскому применению в Российской Федерации. Чувствительность методов составляет 98–100 %, специфичность – 100 %;
- ❖ выделения *S. trachomatis* в культуре клеток. Метод не рекомендуется применять в рутинных исследованиях и для установления этиологии бесплодия.

При этом в соответствии с Клиническими рекомендациями, ПИФ, ИФА, микроскопический и морфологический методы недопустимо использовать для диагностики хламидийной инфекции.

Техника получения клинического образца при использовании метода ПЦР:

- ❖ Материалом для исследования служит соскоб эпителиальных клеток.
- ❖ Клинический материал получают, используя одноразовый стерильный инструмент типа «Cytobrush» или зонд-тампон для ДНК-исследований. **Использование щеток во время беременности противопоказано!**
- ❖ Перед получением клинического образца свободнотекающее отделяемое удаляют стерильным ватным тампоном.
- ❖ Соскоб эпителиальных клеток получают вращательными движениями инструмента.
- ❖ Полученный образец помещают в пробирку типа «Эппендорф», содержащую транспортную среду.
- ❖ Пробирку с биоматериалом хранят и транспортируют при температуре бытового холодильника (+4 °С), не замораживая, не более 1 суток.

Клинический образец может быть получен из следующих возможных отделов инфицирования уретра:

- ❖ перед получением биоматериала рекомендуется задержка мочеиспускания не менее, чем на 1,5 часа;
- ❖ для получения клинического образца из уретры инструмент вводят у мужчин на глубину 2-4 см, у женщин – 1,5-2 см;
- ❖ при обильных гнойных выделениях клинический образец следует получать после мочеиспускания;

влагалище:

клинический образец получают с задней стенки;

эндоцервикальный канал:

для получения клинического образца инструмент вводят на глубину 1,5-2 см;

ампула прямой кишки:

клинический материал получают круговыми движениями со всех стенок, инструмент вводят на глубину 3-4 см;

конъюнктив:

клинический образец получают по поверхности конъюнктивы нижнего века от наружного к внутреннему углу глаза;

носоглотка:

клинический материал получают с задней стенки глотки выше нижнего края мягкого неба и с поверхности миндалин.

Компания «ДНК-Технология» разработала комплекты реагентов для выявления ДНК Хламидии трахоматис (*Chlamydia trachomatis*) методом ПЦР (табл. 1).

Таблица 1. Комплекты реагентов для выявления ДНК Хламидии трахоматис (*Chlamydia trachomatis*)

Наименование возбудителя	Формат детекции				ФСР	Каталожный номер			
	Форез	Flash	Rt	qPCR		Форез	Flash	Rt	qPCR
Хламидия трахоматис (<i>Chlamydia trachomatis</i>)	*	*	*	-	2008/03890	E1-P101-50/1 E1-P101-20/1	F1-P101-51/1 F1-P101-21/1 F1-P101-52/1	R1-P101-23/9 R1-P101-S3/9 R1-P101-24/9	-

Преимуществами использования ДНК-диагностики являются:

- высокая аналитическая чувствительность;
- высокая аналитическая специфичность теста;
- высокая скорость проведения анализа.

Формат наборов:

Наборы раскапаны в пробирки:

- стрипованные (8 шт. по 0,2 мл);
- единичные (0,5 мл или 0,2 мл).

Температура хранения: +2 – +8 °С.

Срок годности:

- форец – 9 месяцев;
- FLASH – 9 месяцев;
- Rt – 9 месяцев.

Рекомендуемые комплекты реагентов для выделения ДНК:

- ПРОБА-РАПИД;
- ПРОБА-НК;
- ПРОБА-ГС.

Материал для исследования:

соскобы из урогенитального тракта, ампулы прямой кишки, конъюнктивы, носоглотки.

Рекомендуемые дополнительные реагенты:

реагенты для контроля качества ДНК (**КВМ**) предназначены для определения и приблизительной оценки количества геномной ДНК человека методом ПЦР в режиме реального времени в биологическом материале человека.

Оборудование, необходимое для проведения анализа:

- для комплектов реагентов в формате FLASH – «Джин», «Джин-4» или аналоги;
- для комплектов реагентов в формате Rt:
 - приборы серии ДТ производства ООО «НПО ДНК-Технология» (ДТлайт, ДТпрайм, ДТ-96, ДТ-322);
 - приборы IQ Cycler производства «Bio-Rad Laboratories»;
 - приборы Rotor-Gene (Qiagen).

Для проведения анализа с использованием стрипованных пробирок необходимо дополнительное оборудование: штатив и насадка на микроцентрифугу-вортекс для стрипованного пластика.

Приборы производства **компании «ДНК-Технология»** оснащены специально разработанным русскоязычным программным обеспечением, поддерживающим **автоматическую** обработку данных и выдачу результатов исследования в удобной для интерпретации форме (рис. 1).

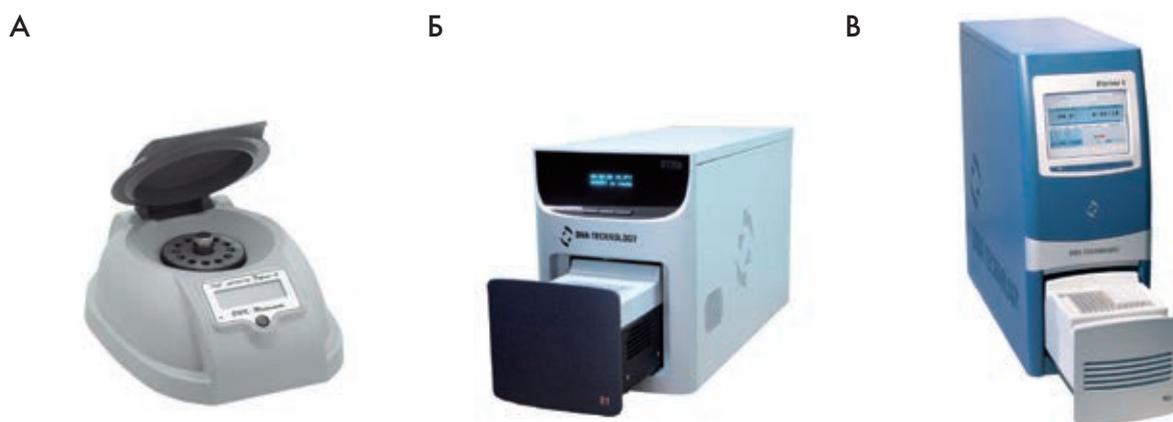
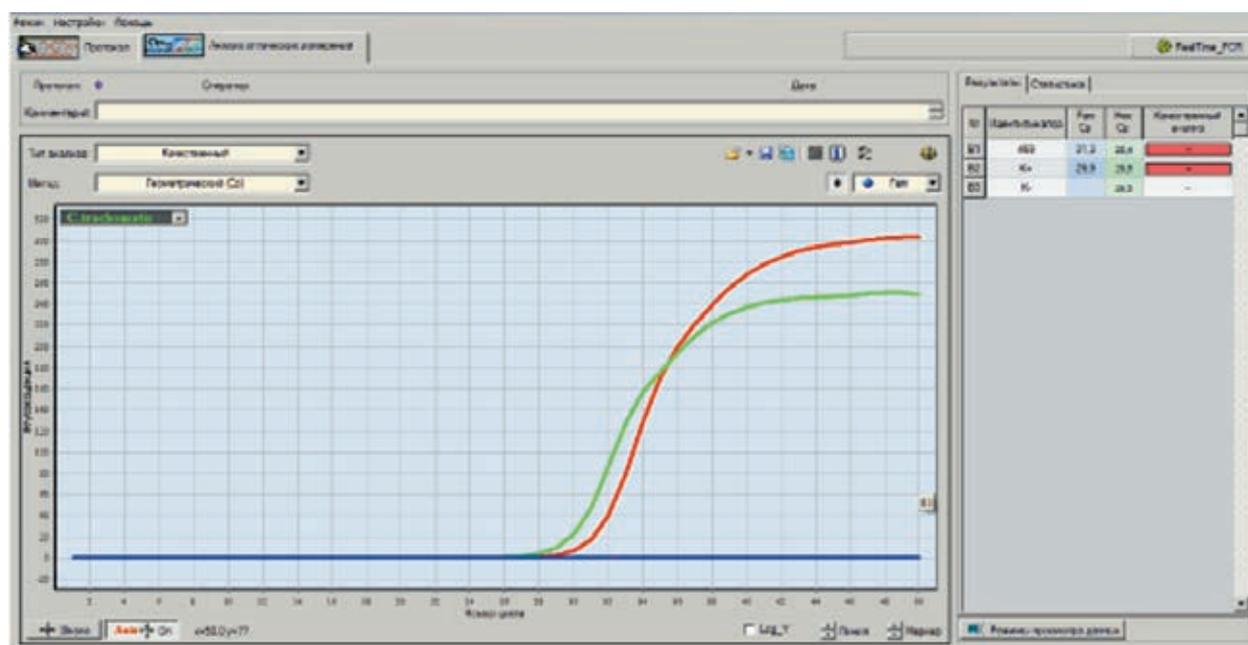


Рис. 1. Приборы производства компании «ДНК-Технология»
 А. Детектор полимеразной цепной реакции флуоресцентный «Джин-4»
 Б. Амплификатор детектирующий DTlite
 В. Амплификатор детектирующий DTprime

Уникальные технические характеристики приборов позволяют существенно сократить общее время проведения анализа. Значительная экономия времени исследования обеспечивает высокую пропускную способность лаборатории.

Кроме того, программа позволяет выдавать результаты в **удобной и наглядной форме** для анализа полученных данных врачами-клиницистами (рис. 2).



Качественный анализ

Номер лунки	Идентификатор пробирки	Ср, Fam	Ср, Hex	Результат
B1	469 C. trachomatis	31,3	28,4	+
B2	K+ C. trachomatis	29,9	29,5	+
B3	K- C. trachomatis		28,5	-

Рис. 2. Результаты качественного анализа в формате Rt (приборы серии ДТ)



Контакты офиса:

ООО «ДНК-Технология» Адрес: Москва, Варшавское шоссе, д. 125 Ж, корп. 6
Тел./факс: (495) 980-45-55 www.dna-technology.ru, mail@dna-technology.ru

Телефон горячей линии:

8 800 200-75-15 (звонок по России бесплатный)