

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 57.083.1:616.98:618.17-055.2

Омарова С.М., Ахмедова Р.С., Багандова Д.Ш., Акаева Ф.С., Муслимов М.О., Исаева Р.И.

МОНИТОРИНГ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ ХЛАМИДИОЗЕ У ЛИЦ РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 367015, Махачкала, Россия

Определение и анализ микробиологических и иммунологических нарушений при урогенитальном хламидиозе смешанной этиологии играет важную роль для понимания патогенеза хронического течения заболевания с тяжёлыми формами осложнений (бесплодие, невынашивания беременности). Наряду с микробиологическими исследованиями (выделение и изучение свойств микробиоты при микст-инфекциях) определена роль антигенов всех участников инфекционного процесса (бактерий, вирусов, грибов) в возникновении адекватных иммунных реакций (уровень интерферона, γ -интерферона), как показателей состояния иммунного ответа.

Ключевые слова: урогенитальный хламидиоз; микст-инфекция; микробиологические и иммунологические нарушения; иммунитет.

Для цитирования: Омарова С.М., Ахмедова Р.С., Багандова Д.Ш., Акаева Ф.С., Муслимов М.О., Исаева Р.И. Мониторинг микробиологических и иммунологических нарушений при урогенитальном хламидиозе у лиц репродуктивного возраста. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 46-48. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-46-48>

Omarova S.M., Akhmedova R.S., Bagandova D.S., Akayeva F.S., Muslimov M.O., Isayeva R.I.

MONITORING OF MICROBIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL DISORDERS IN UROGENITAL CHLAMYDIA IN INDIVIDUALS OF REPRODUCTIVE AGE

Dagestan state medical University, Ministry of health of the Russian Federation, 367015, Makhachkala, Russia

The identification and analysis of microbiological and immunological disorders in urogenital chlamydia of mixed etiology plays an important role in understanding the pathogenesis of the development of the chronic course of the disease with severe complications (infertility, miscarriage). Along with classical microbiological studies (isolating and studying the properties of the microbiota in mixed infections), the role of antigens of all participants of the infectious process (bacteria, viruses, fungi) in the occurrence of adequate immunological reactions (the level of interferon, γ -interferon) as indicators of the immune response.

Key words: urogenital chlamydia; mixed infection; microbiological and immunological disorders; immunity.

For citation: Omarova S.M., Akhmedova R.S., Bagandova D.Sh., Akayeva F.S., Muslimov M.O., Isayeva R.I. Monitoring of microbiological and immunological disorders in urogenital chlamydia in people of reproductive age. *Klinicheskaya laboratornaya Diagnostika (Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (1): 46-48 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-46-48>

For correspondence: Omarova Salidat Magomedovna, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology; e-mail: omarovanpo@mail.ru.

Conflict of interests. The authors declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 02.11.2018
Accepted 14.11.2018

Введение. Данные последних лет свидетельствуют о клинической значимости урогенитальных хламидийных инфекций, относящихся к инфекциям малого таза, передаваемым половым путём [1-3, 6, 11-13]. Хроническое течение таких инфекций оказывают негативное влияние на репродуктивное здоровье, часто являясь причиной тяжёлых осложнений - бесплодия, невынашивания беременности и т. д. Уровень невынашивания беременности у женщин с урогенитальным хламидиозом (УГХ) в популяции репродуктивно активного населения составляет около 25%. При этом урогенитальная инфекция является основной причиной подобных осложнений.

Для корреспонденции: Омарова Салидат Магомедовна, д-р биол. наук, доц., зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии; e-mail: omarovanpo@mail.ru

Уровень заболеваемости УГХ в мире ежегодно составляет более 90 млн. человек [1, 3, 6, 12]. В настоящее время в диагностике инфекционных процессов, особенно хронического течения, применяется комплекс методов исследования, с целью всестороннего изучения патогенеза заболеваний, что особо важно, когда речь заходит о репродуктивном здоровье [2-7]. Наряду с микробиологическими методами широко изучается роль антигенов всех участников инфекционного процесса (бактерий, вирусов, грибов) в возникновении иммунных реакций. В таких иммунопатологических реакциях при персистирующих инфекциях, которые поддерживают постоянный воспалительный процесс, в частности при УГХ, происходят и иммунные изменения в виде вторичного гуморального иммунного ответа с повышенным синтезом специфических антител классов

IgM и IgG к *C. trachomatis*, бактериальным и вирусным патогенам при микст-инфекции. Воздействие на организм возбудителя ведёт к выработке провоспалительных цитокинов и как результат происходят изменения слизистой оболочки шейки матки (действие простагландинов ведёт к её размягчению). Повышение уровня иммунной ответной реакции в виде гиперстимуляции антигенов возбудителей УГХ приводит к хронизации воспалительного процесса уrogenитального тракта и соответственно к рубцеванию тканей, что может играть важную роль в развитии бесплодия и прерывания беременности у женщин репродуктивного возраста [5, 7-9, 12].

Как правило, хламидийная инфекция носит смешанный характер, представляя ассоциацию хламидий с бактериями, вирусами, грибами, что усложняет патогенез воспалительного процесса. В связи с этим возникает необходимость комплексного изучения уrogenитального хламидиоза, как с точки зрения общего инфекционного процесса, так и для выяснения факторов способствующих хроническому течению воспалительных процессов с развитием тяжёлых осложнений [1, 3, 5, 6, 8].

Цель исследования – определение микробного пейзажа и антибиотикоустойчивости штаммов условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), выделенных у лиц репродуктивного возраста при смешанной хламидийной инфекции, и выявление нарушений иммунологических показателей.

Материал и методы. В исследование включены 52 женщины и 75 мужчин репродуктивного возраста с диагнозом уrogenитальный хламидиоз, обратившихся по поводу бесплодия. Диагноз УГХ смешанной этиологии подтверждён с учётом положительных результатов бактериологического метода – посев клинического материала осуществляли в соответствии с Приказом МЗ СССР № 535. Определение чувствительности выделенных условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) к антимикробным препаратам, определяли диско-диффузионным методом в соответствии с Методическими указаниями МУК 4.2.1890-04.

Выделение ДНК возбудителя производили с помощью сертифицированных коммерческих наборов «ДНК-сорб-А-М», «ДНК-сорб-В», «ДНК-сорб-С». Для ПЦР применяли коммерческие наборы ООО НПФ «Гентех» (Москва) и ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора с учётом инструкции фирмы-производителя. Для ПЦР исследований использован амплификатор «Терцик» (ЗАО НПФ ДНК-Технология, Москва).

Оценку изменённых иммунных реакций - уровень γ -интерферона (тест-система γ -Интерферон-ИФА-БЕСТ); уровень интерлейкина-1 β ; интерлейкина 4 и 6 определяли с применением тест-систем «ProCon ИЛ-1 β », «ProCon ИЛ-4», «ProCon ИЛ-6», (Санкт-Петербург); показатели циркулирующих иммунных комплексов и лактоферина («Лактоферрин-стрип D-4106», ЗАО «Вектор-Бест») в сыворотке крови у больных с УГХ анализировали с помощью иммуноферментных и биохимических методов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием относительных величин показателей в процентах. Оценку точности и надёжности - с помощью расчёта 95% доверительного интервала. Оценку значимости различий для независимых величин - сопоставлением доверительных интервалов с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Образцы, полученные из соскобов эпителиальных клеток цервикального канала женщин с диагнозом неспецифический эндоцервицит и

соскобов из уретры у мужчин с диагнозом неспецифический уретрит, изучены на наличие специфических фрагментов ДНК - *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* и *genitalium*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, HSV (1 и 2 типов), HPV (16 и 18 типов).

Частота обнаружения ДНК труднокультивируемых возбудителей среди женщин различна. В 44,2% случаях выявлялись хламидии, трихомонады – в 18%, папиллома вирус человека (16 и 18 типов) – в 16%, гонококки – в 8,8%, уреаплазмы и вирус простого герпеса (1 и 2 типов) обнаруживались в 8% и 5% соответственно. Наибольшую этиологическую роль в развитии эндоцервицита играли хламидии (44,2%).

У 58,4% обследованных мужчин выявлялись хламидии, гонококки – у 10%, трихомонады – в 11,6% случаев, уреаплазма – у 11%, микоплазмы – в 5% случаев. Как в образцах от женщин с эндоцервицитом (44,2%), так в материале от мужчин с уретритом (58,4%) достоверно чаще ($p < 0,05$) выявлялись хламидии.

У 52 женщин с установленным ПЦР методом диагнозом хламидиоз выделена сопутствующая бактериальная микрофлора. Чаще всего бактерии выявлялись в ассоциациях (39%), которые состояли из двух и/или более видов бактерий и грибов рода *Candida*. Бактериальная микрофлора не обнаружена у 21% пациентов. Среди положительных результатов *Klebsiella pneumoniae* выделялась в 19% случаев, *Staphylococcus aureus* – в 14%, *Escherichia coli* – в 8%.

От 75 мужчин с установленным хламидийным уретритом выделен 81 штамм сопутствующей микрофлоры, из них 18 (13,7%) штаммов *K. pneumoniae*, 12 (9,2%) штаммов *E. coli*, 42 (71%) штамма *S. aureus*. Другие уропатогены (9 штаммов) встречались значительно реже в 6,1% случаев.

У пациентов с установленным диагнозом эндоцервицит и уретрит хламидийной этиологии более чем в 89% случаев в клиническом материале отмечалась сопутствующая микрофлора представленная двумя и более микроорганизмами различных таксономических групп. Встречалась микст-инфекция хламидийно-бактериально-грибковой (36,7%), хламидийно-вирусной (29,5%), хламидийно-бактериально-вирусной (21,2%) этиологии. В монокультуре *C. trachomatis* выявлена в 1,8% случаев. У пациентов с высокой микробной нагрузкой отмечался и высокий уровень воспалительных реакций, которые закономерно вели к осложнениям в виде бесплодия и невынашивания беременности.

Выделенные бактериальные патогены, участвующие в патогенезе смешанной хламидийной инфекции, протестированы на чувствительность к антимикробным препаратам, так как при хламидийно-бактериальной инфекции существует необходимость коррекции схем лечения УГХ. Изоляты стафилококков в 86,4% случаев чувствительны к цефалексину, цефазолину, цефотаксиму, цефоперазону, цефтазидиму, цефипиму, имипинему, амоксиклаву, ванкомицину, гентамицину, офлоксацину, ципрофлоксацину, доксициклину, оксацилину, линкомицину; 72,9% - чувствительны к левомицитину, эритромицину; 28,1% - к пенициллину; 22,6 - к ампициллину. Штаммы стрептококков в 98-80% случаев чувствительны к офлоксацину, пefлоксацину, ванкомицину, имипинему; 65,3% - к амоксиклаву, тетрациклину, цефепиму, ампициллину, доксициклину; 37,1% - к цефалексину, ципрофлоксацину, цефазолину, линкомицину; 22,6% - к левомицитину, эритромицину, гентамицину. Представители семейства энтеробактерий (преимущественно штаммы *K. pneumoniae* и

E. coli) в 98% чувствительны к цефоперазону, имипинему, офлоксацину, ципрофлоксацину; в 70,7% – к цефотаксиму, цефепиму, амикацину, цефуроксиму, цефтриаксону, гентамицину; 42,0% – к доксациклину; устойчивы к ампициллину и карбенициллину.

УПМ выделенные из мазков и соскобов обследованной группы лиц репродуктивного возраста с микстинфекцией наиболее чувствительны к цефалоспорином III-IV поколения, фторхинолонам, имипинемам, ванкомицинам, устойчивы (энтеробактерии) к пенициллинам.

Важную роль при хламидийной инфекции играет иммунный статус организма, в частности молекулярно-клеточные механизмы защиты, к которым относятся цитокины. Особую роль в иммунитете против хламидийной инфекции, по мнению ряда авторов, отводят γ -интерферону (γ -ИНФ), что вероятно связано с частым выявлением хламидий с вирусами [9,10]. Анализируя уровень γ -ИНФ в сыворотке крови у пациентов с УГХ в 1,59 раза ниже, чем у здоровых – $21,8 \pm 3,9$ и $45,2 \pm 4,1$ пг/мл соответственно ($p < 0,05$).

Для понимания патогенеза хламидийной инфекции имеют значение показатели интерлейкинов (ИЛ) в сыворотке крови, их баланс с учётом провоспалительных и противовоспалительных свойств при УГХ [9,12]. Уровень ИЛ-1 β в сыворотке крови у пациентов с УГХ в 2,9 раз выше, чем у здоровых лиц. Аналогичные изменения отмечаются и для ИЛ-6, содержание которого увеличилось до уровня 1,96-2,17 раза ($p < 0,001$) и для противовоспалительного ИЛ-4 показатель которого достоверно выше в $1,48 \pm 0,2$ в сравнении с данными иммунных показателей здоровых лиц.

Заключение. Анализ данных по уровню антибиотико-резистентности УПМ, выделенных у пациентов с хламидийной инфекцией, обратившихся по поводу бесплодия, позволяют сформулировать некоторые рекомендации, важные для обоснования этиотропной терапии цервицитов и уретритов смешанной хламидийно-бактериальной этиологии, в которых существенную роль играют штаммы *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*. Согласно полученным результатам, антимикробными препаратами выбора терапии смешанных хламидийных цервицитов и уретритов могут быть цефалоспорином III-IV поколения, что необходимо учитывать при составлении адекватных схем лечения у пациентов с данной патологией.

Результаты изучения некоторых показателей иммунного статуса у обследованной группы пациентов свидетельствуют об активности иммунных реакций при хронической урогенитальной хламидийной инфекции, с наличием некоторого дисбаланса в продукции интерлейкинов с увеличением провоспалительных видов.

Благодарность. Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории клинической микробиологии НИИ «Питательные среды» за оказанную помощь при подготовке исследований.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айламазян Э.Х., Евсюкова И. И. Генитальный хламидиоз - проблема бесплодия. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2000; 2: 7-12.
2. Дмитриев Г.А. Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций. М.: Медицинская книга; 2003.

3. Караулов А.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Лапин Б.А. Хламидийная инфекция. Новые аспекты патогенеза, иммунологии, верификации и лечения инфекции у человека и приматов. М.: Изд-во «Первого МГМУ им. И.М. Сеченова»; 2012.
4. Кубанова А.А., Васильев М.М., Говорун В.М. и др. Современные подходы к диагностике и терапии латентной хламидийной инфекции урогенитального тракта. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2004; 3: 6-10.
5. Омарова С.М., Муслимов М.О., Акаева Ф.С. Изучение методов диагностики хламидийных уретритов смешанной этиологии. *Российский иммунологический журнал РАН*. 2015; 9 (8), 2 (1): 141-2.
6. Урогенитальный хламидиоз. Учебное пособие. Молочков А.В., ред. М.: МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского; 2014.
7. Федина Е.Д. Комплексная лабораторная диагностика урогенитально-го хламидиоза и ассоциированных с ними инфекций при эндоцервицитах. Дисс. канд. биол. наук. Москва; 2002.
8. Хрянин А.А., Решетников О.В. Хламидийные инфекции: от науки к практике. Киев: ООО Тетрис-принт. 2012.
9. Хрянин А.А., Решетников О.В. Интерферон-гамма: новые горизонты терапии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2016; 3-4: 3-8.
10. Хрянин А.А., Решетников О.В. Иммунологические нарушения при урогенитальной инфекции и методы их коррекции. *Антибиотики и химиотерапия*. 2017; 62: 3-4: 46-51.
11. Christiansen G., Bircelund S. Surface structure of Chlamydia. Proceedings fourth meetings of the European society for Chlamydia research. August 20-23. 2000; Helsinki.-Finland. Abstracts.
12. Domeika M., Karabanov L. et. al. Chlamydia trachomatis infections in eastern Europe: legal aspects, epidemiology, diagnosis, and treatment. *Sex Transm. Infect.* 2002; 78 (2): 115-9.
13. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. MMWR. Recommend and Reports. 2015; 64:3: 78-82.

REFERENCES

1. Ajlamazyan E.H., Evsyukova I. I. Genital chlamydia is a problem of infertility.
2. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2000; 2: 7-12. (in Russian)
3. Dmitriev G.A. Laboratory diagnosis of bacterial urogenital infections. [Laboratornaya diagnostika bakterial'nyh urogenital'nyh infektsiy]. Moscow: Meditsinskaya kniga; 2003. (in Russian)
4. Karaulov A.V. Afanasev S.S. Aleshkin V.A. Lapin B.A. Chlamydia infection. New aspects of the pathogenesis, immunology, verification and treatment of infection in humans and primates. [Hlamidiynaya infektsiya. Noveye aspekty patogeneza immunologii ,verifikatsii i lecheniya infektsii u cheloveka i primatov]. Moscow: «Pervyi Moskovskiy gosudarstvennyi meditsinskiy universitet im. I.M. Sechenova»; 2012. (in Russian)
5. Kubanova A.A. Vasilev M.M. Govorun V.M. et al. Modern approaches to the diagnosis and treatment of latent chlamydial infection of the urogenital tract. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2004; 3: 6-10. (in Russian)
6. Omarova S.M., Muslimov M.O., Akaeva F.S. The study of diagnostic methods for chlamydial urethritis of mixed etiology. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal RAN*. 2015; 9 (8), 2(1): 141-2. (in Russian)
7. Urogenital chlamydia. Tutorial. [Urogenitalnyi khlamidioz. Uchebnoe posobie]. Molochkov A.V., ed. Moscow: GBUZ MO Moskovskiy oblastnoy nauchno-klinicheskiy institut im. M.F. Vladimirovskogo; 2014. (in Russian)
8. Fedina E. D. Integrated laboratory diagnosis of urogenital chlamydia and their associated infections in the endocervicitis. Diss. Moscow; 2002. (in Russian)
9. Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Chlamydial infections: from science to practice.
10. Kiev: Izdatelstvo OOO Tetris print; 2012.
11. Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Interferon-gamma: new horizons of therapy.
12. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2016; 3-4: 3-8. (in Russian)
13. Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Immunological disorders in urogenital infections and methods for their correction. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2017; 62 (3-4): 46-51. (in Russian)
14. Christiansen G., Bircelund S. Surface structure of Chlamydia. Proceedings fourth meetings of the European society for Chlamydia research. August 2000; Helsinki.-Finland. - Abstracts.
15. Domeika M., NaHiiп A., Karabanov L. et. al. Chlamydia trachomatis infections in eastern Europe: legal aspects, epidemiology, diagnosis, and treatment. *Sex Transm Infect.* 2002; 78 (2): 115-9.
16. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. MMWR. *Recommend and Reports*. 2015; 64:3: 78-82.

Поступила 02.11.18

Принята к печати 14.11.18