

# ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ИНФЕКЦИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ *S. TRACHOMATIS* И *S. PNEUMONIAE*, У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Н.Е. Бондарева<sup>1</sup>, Е.Ю. Моргунова<sup>1</sup>, Н.А. Зигангирова<sup>1</sup>, Ю.Г. Шапкин<sup>2</sup>,  
Ю.В. Чалык<sup>2</sup>, Р.Ю. Чалык<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского МЗ РФ, г. Саратов, Россия

<sup>3</sup> МУЗ Городская клиническая больница № 6 им. академика В.Н. Кошелева, г. Саратов, Россия

**Резюме.** К настоящему времени данными клинических наблюдений убедительно показано, что возбудители хламидийных инфекций, *S. trachomatis* и *S. pneumoniae*, способны вызывать серьезные заболевания с тяжелыми осложнениями и последствиями. Имеются предположения, что развившаяся хроническая хламидийная инфекция может стать важным фактором в патогенезе заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которые проявляются в так называемый постинфекционный период. Как известно, хламидийная инфекция обладает тропизмом к цилиндрическому эпителию, который у человека выстилает слизистую оболочку уретры, цервикального канала, прямой кишки, конъюнктивы глаз и области глотки. Однако роль возбудителей хламидийных инфекций, таких как *S. trachomatis* и *S. pneumoniae*, в возникновении заболеваний ЖКТ человека не изучена. С целью изучения возможной взаимосвязи между заболеваниями ЖКТ и наличием маркеров хламидийной инфекции была отобрана группа больных с заболеваниями органов ЖКТ, у которых проводили выявление антител к *S. trachomatis* и *S. pneumoniae* и ДНК этих возбудителей в сыворотке крови, биоптатах печени и желчевыводящих протоков. В результате ДНК *S. trachomatis* в сыворотке крови была выявлена в 50% случаев, а в биоптатах печени в 59,3%. Разработан новый подход в серологической диагностике хламидийной инфекции, вызванной *S. trachomatis*, который позволил выявить диагностические титры антител в этой группе больных в 51,9% случаев, в группе сравнения в 11,6% случаев. Среди 50% больных, у которых ДНК была выявлена в сыворотке крови, в 64,3% случаев она также выявлялась в биоптатах органов ЖКТ. При обнаружении ДНК *S. trachomatis* в сыворотке крови антитела к «культуральному» антигену обнаруживались в 60,1% случаев, а при одновременном обнаружении ДНК *S. trachomatis* в сыворотке крови и органах ЖКТ они обнаруживались в 72,2% случаев. Одновременное выявление *S. trachomatis* как в сыворотке крови, так и в органах ЖКТ может свидетельствовать о способности *S. trachomatis* распространяться гематогенным путем и инфицировать органы, удаленные от первичного очага инфекции. Полученные данные, безусловно, требуют даль-

## Адрес для переписки:

Бондарева Наталия Евгеньевна  
123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, 18,  
ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ.  
Тел.: 8 962 985-07-55 (моб.).  
E-mail: natalia.d@mail.ru

## Contacts:

Natalia E. Bondareva  
123098, Russian Federation, Moscow, Gamaleya str., 18,  
Gamaleya Research Center of Epidemiology and Microbiology.  
Phone: +7 962 985-07-55 (mobile).  
E-mail: natalia.d@mail.ru

## Библиографическое описание:

Бондарева Н.Е., Моргунова Е.Ю., Зигангирова Н.А., Шапкин Ю.Г., Чалык Ю.В., Чалык Р.Ю. Выявление маркеров инфекции, обусловленной *S. trachomatis* и *S. pneumoniae*, у больных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 3. С. 316–324. doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-316-324

## Citation:

Bondareva N.E., Morgunova E.Yu., Zigangirova N.A., Shapkin Yu.G., Chalyk Yu.V., Chalyk R.Yu. Identification markers of infection due to *S. trachomatis* and *S. pneumoniae*, in patients with diseases of the gastrointestinal tract // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 316–324. doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-316-324

нейшего изучения в свете выявления связи между обнаружением возбудителя и развитием патологии органов ЖКТ, однако в целом результаты являются еще не изученным свидетельством возможности инфицирования *C. trachomatis* органов ЖКТ.

**Ключевые слова:** *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, хламидийная инфекция, персистентная инфекция, желудочно-кишечный тракт, ПЦР.

## IDENTIFICATION MARKERS OF INFECTION DUE TO *C. TRACHOMATIS* AND *C. PNEUMONIAE*, IN PATIENTS WITH DISEASES OF THE GASTROINTESTINAL TRACT

Bondareva N.E.<sup>a</sup>, Morgunova E.Yu.<sup>a</sup>, Zigangirova N.A.<sup>a</sup>, Shapkin Yu.G.<sup>b</sup>, Chalyk Yu.V.<sup>b</sup>, Chalyk R.Yu.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Gamaleya Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russian Federation

<sup>c</sup> Saratov City Clinical Hospital No. 6 named after academician V.N. Kosheleva, Saratov, Russian Federation

**Abstract.** To date, clinical data have convincingly shown that *C. trachomatis* and *C. pneumoniae* infectious can cause serious diseases with severe complications and consequences. There are assumptions that the developed chronic chlamydial infection can become an important factor in the pathogenesis of the gastrointestinal tract diseases, which are manifested in the so-called post-infectious period. It is commonly known that chlamydial infection has a tropism to the cylindrical epithelium, which covers the human mucous membrane of the urethra, cervix, rectum, conjunctiva of the eyes and the throat. However, the role of the causative agents of chlamydial infections, such as *C. trachomatis* and *C. pneumoniae*, in the occurrence of the gastrointestinal tract diseases has not been studied. In order to study the possible relationship between the gastrointestinal diseases and the presence of chlamydial infection markers, we have selected a group of patients with the gastrointestinal diseases and detected antibodies to *C. trachomatis* and *C. pneumoniae* and DNA of these pathogens in blood serum, liver biopsy and bile ducts. As a result, *C. trachomatis* DNA in blood serum was detected in 50% of cases, and in liver biopsies — in 59.3%. A new approach has been developed in the serological diagnosis of chlamydial infection caused by *C. trachomatis*, which allowed for revealing diagnostic antibody titers in 51.9% of cases in this group of patients, and in the comparison group — in 11.6% of cases. Among 50% of patients, in whom DNA was revealed in blood serum, it was also revealed in 64.3% of cases in biopsy samples of gastrointestinal organs. Upon detection of *C. trachomatis* DNA in blood serum, antibodies to the “cultural” antigen were detected in 60.1% of cases, and with the simultaneous detection of *C. trachomatis* DNA in blood serum and gastrointestinal organs, they were found in 72.2% of cases. Simultaneous detection of *C. trachomatis*, both in blood serum and in the gastrointestinal tract, may indicate the ability of *C. trachomatis* to spread hematogenously and infect organs away from the primary focus of infection. The obtained data absolutely require further study in light of the identification of the relationship between the detection of the pathogen and the development of the gastrointestinal pathology. But in general, the results are not yet studied evidence of the possible gastrointestinal organs infection by *C. trachomatis*.

**Key words:** *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, chlamydial infection, persistent infection, gastrointestinal tract, PCR.

## Введение

К настоящему времени данными клинических наблюдений убедительно показано, что возбудители хламидийных инфекций, *C. trachomatis* и *C. pneumoniae*, способны вызывать серьезные заболевания с тяжелыми осложнениями и последствиями.

У женщин восходящее течение инфекции приводит к развитию воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ). В результате хронического воспаления фаллопиевых труб может развиваться бесплодие. По различным оценкам, его частота составляет 10–40% нелеченых случаев хламидиоза у женщин [13]. Кроме того, на фоне специфического воспаления (сальпингита) возрастает риск внематочной беременности, хронического тазового болевого синдрома, тазового перитонита, выкидышей и преждевременных родов. У беременных ин-

фицированных женщин, высока вероятность рождения недоношенного ребенка и его инфицирования с развитием конъюнктивита и пневмонии [21, 24].

По разным данным *C. pneumoniae* обнаруживаются примерно в 10–20% случаев заболеваний респираторного тракта (синуситы, фарингиты, отиты, бронхиты, пневмонии, эмфизема), в период эпидемии эти показатели могут увеличиваться до 25% [7, 10]. У детей описано коклюшеподобное течение хламидийных пневмоний [17]. В 11% случаев острых бронхитов в мазках из зева и носоглотки обнаруживаются *C. pneumoniae* [5].

В последнее время накапливается все больше данных об участии *C. pneumoniae* в развитии атеросклероза, инфаркта миокарда, болезни Альцгеймера, бронхиальной астмы, саркоидоза, реактивных артритов, синдрома Рейтера и узловатой эритемы [2, 4, 9, 27].

Несмотря на широкий спектр клинических проявлений, патогенез хламидийных инфекций достаточно сложен и не до конца изучен. Его условно можно разделить на несколько стадий: инфицирование слизистых оболочек; первичная региональная инфекция с поражением клеток-мишеней; дальнейшее распространение процесса с множественными поражениями эпителиальных клеток и клиническими симптомами болезни; развитие иммунопатологических реакций; клиника последствий (резидуальная фаза) с образованием морфологических и функциональных изменений в различных органах и системах (при этом возбудитель в организме отсутствует) [1].

Разнообразие клинических проявлений и патогенез хламидийной инфекции связаны со способностью возбудителей хламидиоза к персистенции, благодаря которой патоген может длительно сохраняться в организме в латентном состоянии и приводить к хронической инфекции. В организме хозяина под воздействием различных факторов, в том числе медиаторов воспаления, а также антибиотиков, у хламидий нарушается типичный цикл развития и образуются персистирующие формы. Для этих форм характерна преимущественно внутриклеточная локализация, нарушение деления и метаболизма, а также изменение паттерна антигенных детерминант [8]. Состояние персистенции является обратимым, а восстановление нормального репликативного цикла происходит при возврате в благоприятные условия [15, 26].

В исследованиях нашей лаборатории ранее было показано, что *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* могут распространяться гематогенным путем, при котором внеклеточная форма хламидий — элементарные тельца (ЭТ) — обнаруживаются в сыворотке крови. Циркулирующие в кровяном русле инфекционные ЭТ способны поражать различные органы и ткани, удаленные от первичного очага инфекции, и приводить к хронизации [18]. Тем самым, генерализация инфекции является ключевым фактором развития хронических хламидийных инфекций различной локализации. Особое внимание в последнее время уделяется выявлению *C. trachomatis* в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) при бессимптомном или хроническом течении инфекции ввиду ее возможного участия в патогенезе заболеваний прямой кишки [6, 11, 12].

Появилось предположение, что развившаяся хроническая хламидийная инфекция может стать важным фактором в патогенезе заболеваний ЖКТ, которые проявляются в так называемый постинфекционный период. Как известно, хламидийная инфекция обладает тропизмом

к цилиндрическому эпителию, который у человека выстилает слизистую оболочку уретры, цервикального канала, прямой кишки, конъюнктивы глаз и области глотки. Это обуславливает возможность колонизации хламидиями широкого спектра органов экстрагенитальной локализации и приводит к установлению хронического инфицирования этих органов [23].

Целью данной работы явилось изучение возможной взаимосвязи между заболеваниями ЖКТ и наличием маркеров хламидийной инфекции. Для этого была проанализирована группа больных с заболеваниями ЖКТ (язвой желудка и двенадцатиперстной кишки, острым и хроническим калькулезным холециститом, панкреатитом, опухолями желудка, раком желудка и ректосигмоидного отдела толстой кишки), у которых проводили выявление антител к *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* и ДНК этих возбудителей в сыворотке крови, биоптатах печени и желчевыводящих протоках.

## Материалы и методы

### Пациенты

Протокол исследования был одобрен местным Этическим комитетом. Все пациенты были информированы о цели исследования и дали письменное согласие на участие в нем. В основную группу исследования были включены 54 пациента с заболеваниями органов ЖКТ (острый и хронический холецистит, язвенная болезнь желудка, острый панкреатит), 34 женщины и 20 мужчин в возрасте от 38 до 64 лет. Также была проанализирована группа сравнения, которая состояла из 43 пациентов (26 мужчин и 17 женщин в возрасте от 39 до 70 лет) с острым аппендицитом и онкологическими заболеваниями ЖКТ.

### Клинический материал

Образцы печени и желчного пузыря были получены при лапароскопических вмешательствах. Образцы сыворотки были получены от всех пациентов до проведения операции и хранились при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Исследование не мешало терапевтической подготовке пациентов к операции и не оказывало влияния на послеоперационное лечение.

Также были собраны образцы (биоптаты печени, желудка, кишечника и сыворотки крови) от 43 пациентов с острым аппендицитом и онкологическими заболеваниями ЖКТ.

Все образцы были собраны в стерильных условиях операционной и помещены в микроцентрифужные пробирки, которые запечатывались в операционном зале и открывались только в ламинарном шкафу в безопасных стерильных условиях лаборатории.

## Серологическое исследование образцов сыворотки

*Определение титра антител к C. trachomatis и C. pneumoniae методом МИФ.* Титры антител в сыворотках классов IgG, IgM и IgA к *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* определяли с помощью метода микроиммунофлуоресценции (МИФ) с иммобилизованными антигенами *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* по стандартному протоколу [22]. Детекцию связавшихся антител с антигенами *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* проводили с помощью вторичных антител к иммуноглобулинам человека (IgG, IgM и IgA), конъюгированных с флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ). Результаты оценивали путем просмотра под люминесцентным микроскопом Nikon Eclipse 50i при увеличении x1500. В случае специфического связывания антител с антигеном наблюдается ярко-зеленое свечение.

*Определение антител класса IgG к белку теплового шока Hsp60 C. trachomatis в сыворотках крови методом ИФА.* Выявление антител класса IgG к белку теплового шока Hsp60 *C. trachomatis*, а также выявления антител класса IgG к *C. trachomatis* проводили по стандартной методике, описанной в протоколе Вектор-Бест (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск).

*Определение антител к «культуральному» антигену C. trachomatis в образцах сывороток.* Для выявления комплекса белков, которые хламидии секретируют в мембрану включения, так называемого «культурального» антигена, использовали монослой клеток McCoу, инфицированных *C. trachomatis* сероваром D в формате 96-луночных планшетов. После 20-часового инкубирования монослой инфицированных клеток дважды промывали ФСБР, планшеты высушивали на воздухе, добавляли в лунки по 40 мкл охлажденного метилового спирта, фиксировали 20 мин при +4°C, отбирали спирт и высушивали на воздухе. Детекцию антител к *C. trachomatis* в анализируемых сыворотках проводили непрямой метод с помощью вторичных антител к иммуноглобулинам человека (IgG, IgM и IgA), конъюгированных с ФИТЦ. Результаты оценивали путем просмотра под люминесцентным микроскопом Nikon Eclipse 50i при увеличении x20. В случае специфического связывания антител с антигеном наблюдается ярко-зеленое свечение хламидийных включений в монослое клеток.

*Выделение ДНК из клинического материала и сыворотки крови.* Образцы биоптатов печени гомогенизировали в 1 мл физиологического раствора. Выделение ДНК из гомогенатов органов и сыворотки крови производилось с использованием автоматизированной системы NucliSENS easyMAG (BioMérieux Inc.,

Нидерланды). Образцы объемом 1 мл лизировали при температуре 58°C в течение 1 ч в 1 мл лизирующего буфера с протеиназой К («Синтол», Россия). ДНК элюировалась из системы в конечном объеме 50 мкл.

*Определение ДНК хламидий в клинических образцах методом ПЦР-РВ.* Определение ДНК хламидий проводили с использованием количественного варианта ПЦР-РВ. Для постановки амплификации использовали наборы реагентов для обнаружения ДНК *C. trachomatis* и *C. pneumoniae*: «C. trachomatis-РВ» для количественного определения ДНК *C. trachomatis*, «C. pneumoniae-РВ» для количественного определения ДНК *C. pneumoniae* (ЗАО «Синтол»). Для постановки ПЦР-РВ использовали амплификатор CFX-96 (Bio-Rad, США).

## Результаты

### Определение АТ к *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* в сыворотке крови методом МИФ

Метод микроиммунофлуоресценции основан на выявлении полного комплекса антигенов наружной мембраны хламидий и является «золотым стандартом» серологической диагностики хламидийной инфекции. В качестве антигена в данном тесте используются хламидийные элементарные тельца. Метод МИФ обладает высокой видовой специфичностью и позволяет дифференцировать антитела классов IgG, IgM и IgA.

При хламидийной инфекции выявление антител разных классов происходит через разные промежутки времени после заражения. Известно, что при первичном инфицировании сначала появляются антитела класса IgM, затем IgG и в последнюю очередь IgA. При повторном инфицировании характерно быстрое нарастание титра антител IgG и IgA и практически полное отсутствие антител класса IgM. Для хронической хламидийной инфекции маркеры антител не определены, однако предполагается, что о ее наличии может свидетельствовать обнаружение сочетания титров антител классов IgG и IgA.

В наших исследованиях в реакции МИФ диагностическими титрами являлись для *C. trachomatis* антитела классов: IgG  $\geq$  1:32, IgM  $\geq$  1:16 и IgA  $\geq$  1:32. Диагностически значимыми серологическими маркерами для острой хламидийной инфекции, вызванной *C. trachomatis*, было наличие антител класса IgM, а также сочетание антител классов IgM+IgG или IgM+IgG+IgA. О хронической инфекции, связанной с *C. trachomatis*, могло свидетельствовать обнаружение антител класса IgG, а также сочетание IgG+IgA.



Для острой инфекции, вызванной *S. pneumoniae*, диагностическим критерием являлось обнаружение антител класса IgG  $\geq 1:512$ , а также сочетание IgG  $\geq 1:512$ +IgM, для хронической — сочетание IgM+IgA, IgG  $\geq 1:64$ , IgM  $\geq 1:16$  и IgA  $\geq 1:64$ .

Методом МИФ было проанализировано 54 образца сыворотки от пациентов с различными заболеваниями ЖКТ и 43 образца из группы сравнения на присутствие в них специфических антител классов IgG, IgM и IgA к *S. trachomatis* и *S. pneumoniae*. В результате было выявлено, что антитела, свидетельствующие о наличии хламидийной инфекции, вызванной *S. trachomatis*, не были обнаружены в исследуемых группах пациентов. В опытной группе в 1,9%, а в группе сравнения в 4,7% случаев были выявлены антитела к *S. pneumoniae*, относящиеся к классам IgG и IgA, в титрах не выше 1:128 для IgG и 1:32 для IgA.

#### **Обнаружение антител класса IgG к белку теплового шока Hsp60 *S. trachomatis***

Ранее было показано, что при хронической хламидийной инфекции у *S. trachomatis* усиливается экспрессия белка теплового шока (Hsp60), выявляемого на поверхности клетки-хозяина и выделяющегося во внеклеточное пространство и кровотока. Антитела к этому белку рассматриваются в качестве диагностического критерия персистентной хламидийной инфекции [25]. С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) были проведены исследования по выявлению антител класса IgG к белку теплового шока Hsp60 *S. trachomatis* в сыворотках крови, полученных от 54 пациентов с заболеванием ЖКТ и 43 пациентов из группы сравнения. Было показано, что у 9,3% пациентов обнаруживались антитела класса IgG к Hsp60 *S. trachomatis*. В группе сравнения антитела класса IgG к Hsp60 *S. trachomatis* обнаружены не были.

#### **Обнаружение антител к «культуральному» антигену *S. trachomatis* в сыворотках крови**

В процессе внутриклеточного развития хламидии секретируют белки, которые встраиваются в мембрану фагосомы, содержащей хламидии, так называемые хламидийные включения. Для обнаружения антител, которые секретируются на внутриклеточном этапе развития хламидий, в качестве антигена мы использовали 20-часовой монослой клеток McCoу, инфицированный *S. trachomatis* серовара D, в котором присутствовали хламидийные включения. Затем проводили реакцию микроиммунофлюоресценции, как указано выше, для выявления антител. В случае специфического связывания

антител с антигеном наблюдается ярко-зеленое свечение хламидийных включений в монослой клеток. При отрицательном результате флюоресценция отсутствовала. Диагностическим титром при однократном исследовании считалось разведение 1:16 и выше.

Метод определения антител к «культуральному» антигену был отработан на панели сывороток. В качестве положительных были взяты сыворотки от больных, с подтвержденной методом ПЦР урогенитальной хламидийной инфекцией (положительный соскоб) и диагностическим титром антител, определенным методом МИФ. Также была использована панель отрицательных сывороток от людей с отсутствием жалоб на заболевания урогенитальной сферы и отсутствием хламидийных антител. Было показано, что на панели положительных сывороток антитела к «культуральному» антигену обнаруживались в 80% случаев, при исследовании отрицательных сывороток антитела выявлены не были.

При определении антител IgG к «культуральному» антигену *S. trachomatis* в сыворотках крови исследуемой группы больных с заболеваниями ЖКТ в 51,9% случаев был получен положительный результат. В группе сравнения антитела к «культуральному» антигену определялись в 11,6% случаев.

#### **Определение ДНК *S. trachomatis* и *S. pneumoniae* методом ПЦР в сыворотке крови**

Ранее в нашей лаборатории был разработан подход для выявления ДНК *S. trachomatis* и *S. pneumoniae* в сыворотке крови. Он основан на использовании эффективного метода выделения ДНК, позволяющего минимизировать потери и избежать перекрестной контаминации, и тест-систем для амплификации, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью. Каждая постановка включает в себя контроль выделения, а также положительный и отрицательный контроль реакции амплификации [29]. При использовании разработанного метода для выявления ДНК хламидий в сыворотке крови было показано, что в группе пациентов с заболеваниями ЖКТ ДНК *S. trachomatis* обнаруживалась в 50% случаев, ДНК *S. pneumoniae* — в 3,7%. В группе сравнения ДНК исследуемых возбудителей в сыворотке крови выявлена не была. Количество ДНК для двух видов хламидий в пересчете на ГЭ для *S. trachomatis* составило от  $0,4 \times 10$  до  $4,1 \times 10^2$  ГЭ/мл, и от  $6 \times 10$  —  $6 \times 10^2$  ГЭ/мл — *S. pneumoniae*. Определение ДНК является методом прямого выявления возбудителя и может свидетельствовать о наличии текущей хламидийной инфекции.

**Таблица. Определение ДНК *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* методом ПЦР анализа в сыворотке крови и биоптатах органов желудочно-кишечного тракта**

Table. DNA determination of *C. trachomatis* and *C. pneumoniae* by PCR analysis in blood serum and biopsy specimens of the gastrointestinal organs

| Материал<br>Material          | <i>C. trachomatis</i>                |                                      | <i>C. pneumoniae</i>                 |                                      |
|-------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
|                               | Опытная группа<br>Experimental group | Группа сравнения<br>Comparison group | Опытная группа<br>Experimental group | Группа сравнения<br>Comparison group |
| Сыворотка<br>Serum            | 50%                                  | 0                                    | 3,7%                                 | 0                                    |
| Печень<br>Liver               | 59,3%                                | 0                                    | 13%                                  | 0                                    |
| Желчный пузырь<br>Gallbladder | 16,7%                                | 0                                    | 5,6%                                 | 0                                    |

**Определение ДНК *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* методом ПЦР в биоптатах органов ЖКТ**

В нашем исследовании биоптаты печени были получены от всех больных с заболеваниями органов ЖКТ, биоптаты желчного пузыря от 29,6% больных. В группе сравнения были получены биоптаты других органов ЖКТ (желудок, аппендикс, прямая кишка). При определении ДНК в биоптатах было показано, что ДНК *C. trachomatis* обнаруживалась в 59,3% образцов печени и в 16,7% образцов желчного пузыря. ДНК *C. pneumoniae* была выявлена в 13% биоптатов печени и в 5,6% — желчного пузыря (табл.). В группе сравнения ДНК *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* выявлена не была. Количество в ГЭ для *C. trachomatis*, обнаруженное в печени составило  $2,5 \times 10^2 - 8,5 \times 10^2$ , для *C. pneumoniae* —  $5,1 \times 10^2 - 1 \times 10^4$ ; в желчном пузыре — *C. trachomatis* —  $9 \times 10^2 - 1,9 \times 10^4$ , *C. pneumoniae* —  $2 \times 10^2 - 5,4 \times 10^3$ .

**Обсуждение**

Известно, что хламидийная инфекция распространена повсеместно, однако ее участие в возникновении заболеваний органов ЖКТ не изучено. Целью настоящего исследования было определить возможную взаимосвязь обнаружения маркеров хламидийной инфекции и возникновения заболеваний ЖКТ.

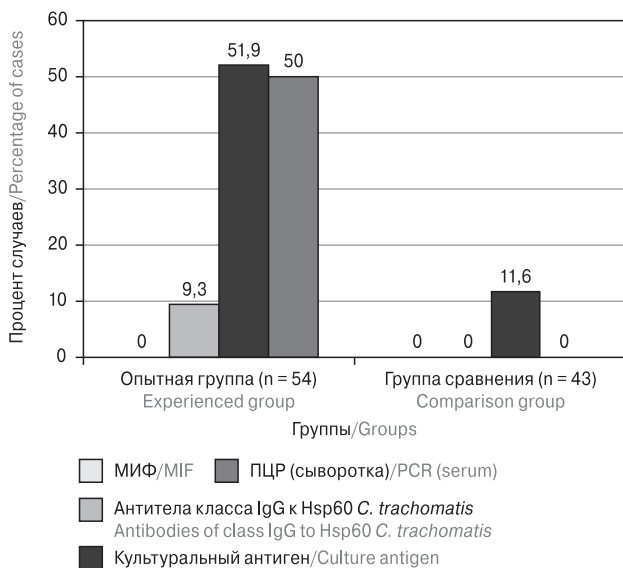
В нашем исследовании для выявления хламидийной инфекции мы использовали методы прямого выявления возбудителя в сыворотке крови и органах ЖКТ, а также методы выявления серологических маркеров (МИФ, обнаружение антител класса IgG к белку теплового шока Hsp60 *C. trachomatis* и определение антител к «культуральному» антигену *C. trachomatis*). В основную группу были отобраны больные с заболеваниями органов ЖКТ (острый и хронический холецистит, язвенная болезнь желудка,

ка, острый панкреатит, рак желудка), 34 женщины и 20 мужчин в возрасте от 38 до 64 лет с отсутствием жалоб на текущую урогенитальную и респираторную инфекцию.

Изучая биоптаты органов больных с заболеваниями ЖКТ, мы в значительном проценте случаев выявили ДНК *C. trachomatis* (59,3% — в печени и 16,7% — в желчном пузыре). ДНК *C. trachomatis* в сыворотке крови была обнаружена в 50% случаев, в контрольной группе ДНК выявлена не была.

Были использованы также серологические методы, которые, как известно, имеют вспомогательное значение при диагностике хламидийных инфекций, с целью возможного определения серологических маркеров, свидетельствующих о наличии инфекции. Метод микроиммунофлюоресценции является «золотым стандартом» серологической диагностики хламидийной инфекции, ввиду того, что он основан на выявлении полного комплекса антигенов наружной мембраны. В нашем исследовании, при использовании этого метода для выявления антител разных классов в сыворотках больных с заболеваниями ЖКТ антитела к *C. trachomatis* и *C. pneumoniae* выявлены не были. Доказано, что обнаружение антител класса IgG к белку теплового шока Hsp60 *C. trachomatis* свидетельствует о наличии воспалительного заболевания органов малого таза, внематочной беременности, трахомы или трубного бесплодия [14, 16, 18, 19, 20, 28]. В нашем исследовании при использовании этого метода в 9,3% сывороток больных с заболеваниями ЖКТ были выявлены антитела класса IgG к белку теплового шока Hsp60 *C. trachomatis*.

Как известно, персистирующие формы хламидий локализуются и длительно сохраняются внутриклеточно. Мембрана хламидийного включения является важной структурой, осуществляющей связь между клеткой хозяина и бактерией. Мембрана включений содержит большое количество интегральных белков хла-



**Рисунок. Сравнение эффективности методов выявления маркеров хронической хламидийной инфекции в сыворотке крови**

Figure. Comparison of the effectiveness of methods for detecting markers of chronic Chlamydia infection in serum

мидий, которые и являлись основной мишенью в методе выявления антител к «культуральному» антигену. Этот метод позволил выявить антитела в 51,9% сывороток в группе пациентов с заболеваниями ЖКТ в сравнении с 11,6% в группе сравнения (рис.).

Ранее в нашей лаборатории проводилось исследование гематогенного пути распространения хламидий при воспалительных заболеваниях органов малого таза. Были исследованы образцы сывороток от 52 человек с диагностированной хламидийной инфекцией. Диагноз урогенитальный хламидиоз был подтвержден посредством культурального посева соскоба, а также выделения из него ДНК. При определении ДНК в сыворотке крови было выявлено 94,2% положительных образцов в сравнении с контрольной группой, где все сыворотки были отрицательными на наличие ДНК *C. trachomatis*. Количество ДНК составляло от  $2 \times 10^2$  до  $10^3$  ГЭ/мл сыворотки крови [29]. Возможный гематогенный путь распространения хламидий был показан также в другой работе [3], где выявление возбудителя в крови у больных урогенитальной инфекцией достигало 100%.

Была проведена работа по одновременно выявлению *C. trachomatis* в клетках печени и сыворотке крови у больных с острым холециститом. В результате было показано, что при

циркуляции патогена в сыворотке крови в 55% случаев возможно инфицирование печени.

В текущей работе ДНК *C. trachomatis* в сыворотке крови была обнаружена у 50% пациентов. У этих же больных в 64,3% ДНК *C. trachomatis* выявлялась и в биоптатах органов ЖКТ. При обнаружении ДНК *C. trachomatis* в сыворотке крови антитела к «культуральному» антигену обнаруживались в 60,1% случаев, а при одновременном обнаружении ДНК *C. trachomatis* в сыворотке крови и органах ЖКТ, они обнаруживались в 72,2% случаев.

Урогенитальный хламидиоз характеризуется весьма широким спектром осложнений, связанных с диссеминацией *C. trachomatis* из первичного очага инфекции в удаленные органы. На данный момент достаточно хорошо изучены интраканаликулярный (восходящий), лимфогенный и интранатальный (при прохождении через родовые пути) пути распространения патогена. Тем не менее, экстрагенитальную патологию, такую как артриты и внутриутробное инфицирование плода, обусловленные *C. trachomatis*, многие клиницисты рассматривают как следствие диссеминации патогена гематогенным путем. Однако на сегодняшний день существует достаточно ограниченное количество исследований, доказывающих ключевую роль данного пути в развитии экстрагенитальной патологии хламидийной этиологии. В связи с этим, актуальным является детальное изучение механизмов распространения *C. trachomatis* гематогенным путем.

В результате проведенного исследования была выявлена ДНК *C. trachomatis* как в сыворотке крови, так и в клетках печени и желчного пузыря у пациентов с заболеваниями органов ЖКТ. Одновременное выявление *C. trachomatis* как в сыворотке крови, так и в органах ЖКТ, может свидетельствовать о способности *C. trachomatis* распространяться гематогенным путем и инфицировать органы, удаленные от первичного очага инфекции. Использование методов серологической диагностики показало, что при персистентной инфекции наиболее достоверно выявляются антитела к антигенам внутриклеточного этапа развития, выявление других антител было малоэффективно.

Полученные данные, безусловно, требуют дальнейшего изучения в свете выявления связи между обнаружением возбудителя и развитием патологии органов ЖКТ, однако в целом результаты являются еще не изученным свидетельством возможности инфицирования *C. trachomatis* органов ЖКТ.

## Список литературы/References

1. Абакарова П.Р. Урогенитальный хламидиоз: принципы диагностики и лечения // Гинекология. 2006. Т. 8, № 2. С. 21–23. [Abakarova P.R. Urogenital chlamydia: principles of diagnosis and treatment. *Ginekologiya = Gynecology*, 2006, vol. 8, no. 2, pp. 21–23. (In Russ.)]
2. Мавров Г.И. Хламидийные инфекции: биология возбудителей, патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика. Киев, 2005. 524 с. [Mavrov G.I. Khlamidiinye infektsii: biologiya vobuditelei, patogenez, klinika, diagnostika, lechenie, profilaktika [Chlamydial infections: biology of pathogens, pathogenesis, clinic, diagnosis, treatment, prevention]. Kiev, 2005. 524 p.]
3. Султанакмедов Э.С., Утц С.Р., Салтыков Ю.В., Мотин В.Л., Федорова В.А. Детекция Chlamydia trachomatis в образцах крови как метод диагностики осложненных и персистирующих форм урогенитальной хламидийной инфекции // Саратовский научно-медицинский журнал. 2015. Т. 11, № 3. С. 381–385. [Sultanakhmedov E.S., Utz S.R., Saltykov Y.V., Motin V.L., Fedorova V.A. Detection of Chlamydia trachomatis in blood samples as a diagnostic method for complicated and persistent forms of urogenital Chlamydia infections. *Saratovskii nauchno-meditsinskii zhurnal = Saratov Journal of Medical Scientific Research*, 2015, vol. 11, no. 3, pp. 381–385. (In Russ.)]
4. Al-Aydie S.N., Obeidat N.M., Al-Younes H.M. Role of Chlamydia pneumoniae in community-acquired pneumonia in hospitalized Jordanian adults // *J. Infect. Dev. Ctries*, 2016, vol. 10, no. 3, pp. 227–236. doi: 10.3855/jidc.6590
5. Bartlett J.G., Breiman R.F., Mandell L.A., Fine T.M. Jr. Community-acquired pneumonia in adults: guidelines for management. *Clin. Infect. Dis.*, 1998, vol. 26, no. 4, pp. 811–838. doi: 10.1086/513953
6. Beatty W.L., Morrison R.P., Byrne G.I. Persistent chlamydiae: from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. *Microbiol. Rev.*, 1994, vol. 58, no. 4, pp. 686–699.
7. Blasi F., Damato S., Cosentini R., Tarsia P., Raccanelli R., Centanni S., Allegra L.; Chlamydia InterAction with COPD (CIAC) Study Group. Chlamydia pneumoniae and chronic bronchitis: association with severity and bacterial clearance following treatment. *Thorax*, 2002, vol. 57, no. 8, pp. 672–676. doi: 10.1136/thorax.57.8.672
8. Caldwell H.D., Wood H., Crane D., Bailey R., Jones R.B., Mabey D., Maclean I., Mohammed Z., Peeling R., Roshick C., Schachter J., Solomon A.W., Stamm W.E., Suchland R.J., Taylor L., West S.K., Quinn T.C., Belland R.J., McClarty G. Polymorphisms in Chlamydia trachomatis tryptophan synthase genes differentiate between genital and ocular isolates. *J. Clin. Invest.*, 2003, vol. 111, no. 11, pp. 1757–1769. doi: 10.1172/JCI17993
9. Carter J.D., Inman R.D. Chlamydia-induced reactive arthritis: hidden in plain sight? *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 2011, vol. 25, no. 3, pp. 359–374. doi: 10.1016/j.berh.2011.05.001
10. Choroszy-Król I., Frej-Mądrzak M., Hober M., Sarowska J., Jama-Kmieciak A. Infections caused by Chlamydia pneumoniae. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2014, vol. 23, no. 1, pp. 123–126
11. Dlugosz A., Törnblom H., Mohammadian G., Morgan G., Veress B., Edvinsson B., Sandström G., Lindberg G. Chlamydia trachomatis antigens in enteroendocrine cells and macrophages of the small bowel in patients with severe irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol.*, 2010, vol. 10: 19. doi: 10.1186/1471-230X-10-19
12. Francis C., Prior A., Whorwell P.J., Morris J. Chlamydia trachomatis infection: is it relevant in irritable bowel syndrome? *Digestion*, 1998, vol. 59, no. 2, pp. 157–159. doi: 10.1159/000007481
13. Haggerty C.L., Gottlieb S.L., Taylor B.D., Low N., Xu F., Ness R.B. Risk of sequelae after Chlamydia trachomatis genital infection in women. *J. Infect. Dis.*, 2010, vol. 201, no. 2, pp. 134–155. doi: 10.1086/652395
14. Jakus S., Neuer A., Dieterle S., Bongiovanni A.M., Witkin S.S. Antibody to the Chlamydia trachomatis 60 kDa heat shock protein in follicular fluid and in vitro fertilization outcome. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2008, vol. 59, no. 2, pp. 85–89. doi: 10.1111/j.1600-0897.2007.00539.x
15. Linhares I.M., Witki S.S. Immunopathogenic consequences of Chlamydia trachomatis 60 kDa heat shock protein expression in the female reproductive tract. *Cell. Stress Chaperones*, 2010, vol. 15, no. 5, pp. 467–473. doi: 10.1007/s12192-010-0171-4
16. Mascellino M.T., Ciardi M.R., Oliva A., Cecinato F., Hassemmer M.P., Borgese L. Chlamydia trachomatis detection in a population of asymptomatic and symptomatic women: correlation with the presence of serological markers for this infection. *New Microbiol.*, 2008, no. 31, pp. 249–256.
17. Miyashita N., Fukano H., Yoshida K., Niki Y., Matsushima T. Chlamydia pneumoniae infection in adult patients with persistent cough. *J. Med. Microbiol.*, 2003, no. 52, pp. 265–269.
18. Neuer A., Lam K.N., Tiller F.W., Kiesel L., Witkin S.S. Humoral immune response to membrane components of Chlamydia trachomatis and expression of the human 60 kDa heat shock protein in follicular fluid of in-vitro fertilization patients. *Hum. Reprod.*, 1997, vol. 12, no. 5, pp. 925–929.
19. Ondondo B.O., Brunham R.C., Harrison W.G., Kinyari T., Sheth P.M., Mugo N.R., Cohen C.R. Frequency and magnitude of Chlamydia trachomatis elementary body- and heat shock protein 60-stimulated interferon  $\gamma$  responses in peripheral blood mononuclear cells and endometrial biopsy samples from women with high exposure to infection. *J. Infect. Dis.*, 2009, vol. 199, no. 12, pp. 1771–1779. doi: 10.1086/599095
20. Peeling R.W., Bailey R.L., Conway D.J., Holland M.J., Campbell A.E., Jallow O., Whittle H.C., Mabey C.W. Antibody response to the 60-kDa chlamydial heat-shock protein is associated with scarring trachoma. *J. Infect. Dis.*, 1998, vol. 177, no. 1, pp. 256–259. doi: 10.1086/517367
21. Peipert J.F. Clinical practice. Genital chlamydial infections. *N. Engl. J. Med.*, 2003, vol. 349, no. 25, pp. 2424–2430. doi: 10.1056/NEJMc030542
22. Persson K., Boman J. Comparison of five serologic tests for diagnosis of acute infections by Chlamydia pneumoniae. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2000, vol. 7, no. 5, pp. 739–740.
23. Rank R.G., Yeruva L. Hidden in plain sight: chlamydial gastrointestinal infection and its relevance to persistence in human genital infection. *Infect. Immun.*, 2014, vol. 82, no. 4, pp. 1362–1371. doi: 10.1128/IAI.01244-13



24. Schachter J., Moncada J., Liska S., Shayevich C., Klausner J.D. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial and gonococcal infections of the oropharynx and rectum in men who have sex with men. *Sex. Transm. Dis.*, 2008, vol. 35, no. 7, pp. 637–642. doi: 10.1097/OLQ.0b013e31817bdd7e
25. Seraceni S., De Seta F., Colli C., Del Savio R., Pesel G., Zanin V., D'Agaro P., Contini C., Comar M. High prevalence of HPV multiple genotypes in women with persistent chlamydia trachomatis infection. *Infect. Agent. Cancer*, 2014, vol. 9: 30. doi: 10.1186/1750-9378-9-30
26. Skilton R.J., Cutcliffen L.T., Barlow D., Wang Y., Salim O., Lambden P.R., Clarke I.N. Penicillin induced persistence in Chlamydia trachomatis: high quality time lapse video analysis of the developmental cycle. *PLoS ONE*, 2009, vol. 4, no. 11: e7723. doi: 10.1371/journal.pone.0007723
27. Smith-Norowitz T.A., Chotikanatis K., Erstein D.P., Perlman J., Norowitz Y.M., Joks R., Durkin H.G., Hammerschlag M.R., Kohlhoff S. Chlamydia pneumoniae enhances the Th2 profile of stimulated peripheral blood mononuclear cells from asthmatic patients. *Hum. Immunol.*, 2016, vol. 77, no. 5, pp. 382–388. doi: 10.1016/j.humimm.2016.02.010
28. Tiitinen A., Surcel H.M., Halttunen M., Birkelund S., Bloigu A., Christiansen G., Koskela P., Morrison S.G., Morrison R.P., Paavonen J. Chlamydia trachomatis and chlamydial heat shock protein 60-specific antibody and cell-mediated responses predict tubal factor infertility. *Hum. Reprod.*, 2006, vol. 21, no. 6, pp. 1533–1538. doi: 10.1093/humrep/del014
29. Zigangirova N.A., Rummyantseva Y.P., Morgunova E.Y., Kapotina L.N., Didenko L.V., Kost E.A., Koroleva E.A., Bashmakov Y.K., Petyaev I.M. Detection of C. trachomatis in the serum of the patients with urogenital chlamydia. *Biomed. Res. Int.*, 2013, 7 p. doi: 10.1155/2013/489489

**Авторы:**

**Бондарева Н.Е.**, научный сотрудник лаборатории хламидиоза отдела медицинской микробиологии ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия;

**Моргунова Е.Ю.**, научный сотрудник лаборатории хламидиозов отдела медицинской микробиологии ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия;

**Зигангирова Н.А.**, д.б.н., профессор, руководитель отдела медицинской микробиологии ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия;

**Шапкин Ю.Г.**, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, зав. кафедрой общей хирургии ФГБУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского МЗ РФ, г. Саратов, Россия;

**Чалык Ю.В.**, д.м.н., профессор, профессор кафедры общей хирургии ФГБУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского МЗ РФ, г. Саратов, Россия;

**Чалык Р.Ю.**, к.м.н., врач ГУЗ Городская клиническая больница № 6 им. академика В.Н. Кошелева, г. Саратов, Россия.

**Authors:**

**Bondareva N.E.**, Researcher, Laboratory of Chlamydia, Department of Medical Microbiology, Gamaleya Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

**Morgunova E.Yu.**, Researcher, Laboratory of Chlamydia, Department of Medical Microbiology, Gamaleya Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

**Zigangirova N.A.**, PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Department of Medical Microbiology, Gamaleya Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

**Shapkin Yu.G.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Physician of the Russian Federation, Head of the Department of General Surgery, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russian Federation;

**Chalyk Yu.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Department of General Surgery, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russian Federation;

**Chalyk R.Yu.**, PhD (Medicine), Physician of Saratov City Clinical Hospital No. 6 named after academician V.N. Koshelev, Saratov, Russian Federation.

Поступила в редакцию 16.10.2017  
Отправлена на доработку 18.04.2018  
Принята к печати 07.06.2018

Received 16.10.2017  
Revision received 18.04.2018  
Accepted 07.06.2018