



Научные обзоры / Scientific reviews

© БЕЛОВА Е. В., КАПУСТИНА Т. А., МАРКИНА А. Н., ПАРИЛОВА О. В.

УДК 616-07 : 616.9 : 579.882.11

DOI: 10.20333/2500136-2019-1-5-16

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА РЕСПИРАТОРНОГО ХЛАМИДИОЗА

Е. В. Белова, Т. А. Капустина, А. Н. Маркина, О. В. Парилова

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярск 660022, Российская Федерация

Резюме. В статье освещены современные подходы к лабораторной верификации хламидийной инфекции в слизистой оболочке верхнего отдела респираторного тракта у больных с острыми и хроническими заболеваниями носа и глотки. Представлена краткая характеристика, область применения, достоинства и недостатки бактериоскопического, иммунологического, молекулярно-биологического и культурального методов диагностики хламидиоза. Авторы излагают взгляды ведущих ученых, а также свое мнение в отношении возможности в постановке диагноза хламидийной инфекции верхних дыхательных путей каждого из этих методов, представляют разработанный и апробированный комплекс диагностического обследования и методики забора клинического материала при заболеваниях носа, околоносовых пазух и глотки.

Ключевые слова: хламидийная инфекция, респираторный хламидиоз, лабораторная диагностика, прямая и непрямая идентификация хламидий, чувствительность и специфичность методов, забор материала.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Белова ЕВ, Капустина ТА, Маркина АН, Парилова ОВ. Лабораторная диагностика респираторного хламидиоза. *Сибирское медицинское обозрение.* 2019;(1):5-16. DOI: 10.20333/2500136-2019-1-5-16

LABORATORY DIAGNOSTICS OF RESPIRATORY CHLAMYDIA

E. V. Belova, T. A. Kapustina, A. N. Markina, O. V. Parilova

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

Abstract. The article highlights modern approaches to laboratory verification of chlamydial infection in the mucous membrane of the upper respiratory tract in patients with acute and chronic nose and throat diseases. A brief description, application field, advantages and disadvantages of bacterioscopic, immunological, molecular-biological and cultural methods for the diagnosis of chlamydia are given. The authors present the views of leading scientists, as well as their opinion on the possibility of diagnosing chlamydial infection of the upper respiratory tract using each of these methods, besides, they present a developed and approved set of diagnostic examinations and methods for taking clinical material for diseases of nose, paranasal sinuses and pharynx.

Key words: chlamydial infection, respiratory chlamydia, laboratory diagnostics, direct and indirect identification of chlamydia, sensitivity and specificity of methods, material sampling.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Belova EV, Kapustina TA, Markina AN, Parilova OV. Laboratory diagnostics of respiratory chlamydia. *Siberian Medical Review.* 2019;(1):5-16. DOI: 10.20333/2500136-2019-1-5-16

Введение

На сегодняшний день проблема своевременной и эффективной диагностики инфекций верхних дыхательных путей весьма актуальна вследствие широкого спектра инфекционных агентов, а также большого количества существующих методов лабораторного обследования [1]. С течением времени происходит смена этиологически значимых в развитии заболеваний верхних дыхательных путей микроорганизмов с увеличением роли внутриклеточных инфекционных агентов, в том числе хлами-

дий [2, 3, 4, 5, 6]. Многочисленные исследования, проведенные в последние десятилетия, показали участие хламидийной инфекции в этиопатогенезе различных заболеваний бронхолегочной, сердечно-сосудистой и нервной систем, урогенитального тракта, опорно-двигательного аппарата и глаз [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13]. В 3-53 % случаев хламидийная инфекция инициирует воспалительные заболевания носа, околоносовых пазух и глотки [14, 15, 16, 17].

Одной из причин роста респираторного хламидиоза является доступность для населения антибакте-

риальных препаратов, самостоятельное нерациональное использование которых способствует снижению местного иммунитета и нарушению микробиотоза слизистой оболочки, создавая тем самым благоприятную среду для контаминации различными патогенными микробами, в том числе и мембранными.

Учитывая отсутствие патогномичных симптомов респираторного хламидиоза, скрывающегося под масками других заболеваний, диагностика хламидийной инфекции верхних дыхательных путей должна быть комплексной и основываться на жалобах больного, данных анамнеза, объективного осмотра и лабораторного обследования [18, 19]. При этом решающее значение для верификации хламидийной инфекции имеют результаты лабораторной диагностики, способствующие своевременному назначению адекватной противохламидийной терапии, уменьшению числа осложнений, предотвращению диссеминации и хронизации инфекционного процесса.

В настоящее время для идентификации хламидийной инфекции любой локализации применяется большое количество лабораторных методов, различающихся между собой как по специфичности, так и по чувствительности. Разнообразие применяемых методов для выявления хламидийной инфекции приводит к определенным трудностям при выборе наиболее эффективных диагностических тестов с целью использования их в клинической практике.

Основные принципы лабораторной диагностики хламидийной инфекции основываются на прямом выявлении возбудителя, его структур (антигенов и нуклеиновых кислот) в клинических образцах и на косвенном подтверждении инфекции (определение противохламидийных антител). Прямые лабораторные тесты позволяют выявлять две основные формы существования хламидий: внутриклеточных ретикулярных телец (РТ) и внеклеточных элементарных телец (ЭТ).

Прямые тесты обнаружения хламидийной инфекции включают бактериоскопический (цитологический), иммунологический (прямой и непрямой иммунофлюоресцентный анализ, иммуноферментный анализ), культуральный, молекулярно-биологический (полимеразно-цепная реакция real-time, полимеразно-цепная реакция, лигазная

цепная реакция и транскрипционная амплификация) методы.

К непрямым методам относятся серологические тесты (реакция связывания комплемента, реакция непрямой гемагглютинации, реакция непрямой иммунофлюоресценции, иммуноферментный анализ). Иммунофлюоресцентный и иммуноферментный анализы представляют собой иммунохимические методы, основанные на комплементарном взаимодействии специфического антигена и специфического антитела с последующим определением продуктов этого взаимодействия.

Клиническим материалом для прямого диагностирования хламидийной инфекции носа, его придаточных пазух и глотки служат мазки-соскобы со слизистой оболочки носа и глотки, лакун небных миндалин и мазки отпечатки с биоптатов (ткани небной и носоглоточной миндалин, полипы, грануляции и т.д.). Для взятия соскобного материала применяются специальные щеточки и петли, но можно использовать небольшого плотного ватный тампон, прижимая его к слизистой оболочки и двигая им в разных направлениях. В случаях повышенного слизееобразования, предварительно перед взятием соскобного материала, необходимо удалить избыток слизи. Обязательными условиями, определяющими качество соскобного материала, являются наличие в мазке эпителиальных клеток, отсутствие примеси крови и осуществление забора в нескольких точках.

Взятый материал распределяют тонким слоем по поверхности обезжиренного предметного стекла и подсушивают. Если невозможно сразу провести иммунофлюоресцентный или цитологический анализ, то необходимо зафиксировать мазок 96° этиловым спиртом или метанолом с последующим хранением в холодном месте (2°-8°С) не более 7 дней.

Бактериоскопический (цитологический, морфологический) метод основан на выявлении морфологических структур хламидий в пораженных эпителиальных клетках. С помощью цитологического метода после окраски по Романовскому-Гимза при световой или электронной микроскопии в соскобном материале могут определяться цитоплазматические включения хламидий (тельца Гальбедштедтера-Провачека), содержащие округлые или полулунные крупные ретикулярные тельца (РТ)

сине-фиолетового цвета и мелкие элементарные тельца (ЭТ) красно-фиолетового цвета.

Для постановки диагноза достаточно обнаружить хотя бы одно типичное цитоплазматическое включение. Кроме выявления хламидийных включений бактериоскопический метод позволяет дать общее представление о цитологической картине и морфологии клеток в очаге воспаления, выявить наличие сопутствующей микрофлоры и нейтрофильно-макрофагальную реакцию.

Бактериоскопический метод малоинформативен при хламидийной инфекции урогенитальной локализации, что связано с его низкой чувствительностью – от 5 % до 30 % [20, 21, 22, 23, 24]. Недостаточная чувствительность также ограничивает его применение и в оториноларингологической практике. Цитологический метод удобен для констатации конъюнктивита у новорожденных, при этом его чувствительность по данным разных авторов колеблется от 60 % до 90 % [20, 22, 25]. Этот метод не рекомендуется применять для проведения скрининговых исследований, так как, несмотря на техническую простоту, на просмотр одного мазка уходит около 30-40 минут.

Значительно более высокой чувствительностью (65 % - 95 %) и специфичностью (65 % - 98 %) по сравнению с цитологическим исследованием обладает другой метод - иммунофлуоресцентный анализ [22, 24, 26], выявляющий антигены хламидий в пораженных клетках и вне их. В основе этого метода лежит взаимодействие хламидийных антигенов с хламидийными антителами, содержащихся в стандартных диагностических иммунных сыворотках. Результаты этого взаимодействия регистрируются объективно с помощью люминесцентного микроскопа, поэтому иногда этот метод причисляют к бактериоскопическим методам.

Для диагностики хламидиоза верхних дыхательных путей и идентификации вида возбудителя можно применять как прямой иммунофлуоресцентный метод (ПИФ), так и непрямой иммунофлуоресцентный метод (НИФ). Кроме этого данные тесты способны выявлять не только корпускулярные, но и растворимые антигены хламидий.

ПИФ предполагает обработку мазка специфическими моно- или поликлональными антителами, меченными флуоресцирующим индикатором

флуорохромом. При НИФ обработка препарата проходит в два этапа: сначала его обрабатывают иммунной сывороткой, содержащей немеченые специфические противохламидийные иммуноглобулины, затем окрашивают вторичными мечеными антителами, специфичными к противохламидийным иммуноглобулинам, позволяющими выявить комплексы антиген-антитело. Подготовленные таким образом препараты оценивают визуально при помощи люминесцентной микроскопии. Для правильной оценки результатов необходимо, чтобы в мазке было не менее 50 эпителиальных клеток.

Антигены хламидий выявляются в виде ярко-зеленых РТ и ЭТ на красно-коричневом или оранжевом фоне цитоплазмы клеток мишеней. Иногда можно обнаружить внутриклеточные включения в виде околядерных «шапочек» зеленого цвета. Результат оценивается как положительный при обнаружении не менее 10 ЭТ или РТ, либо одного типичного внутриклеточного включения. Если при первичном исследовании материала количество ЭТ или РТ оказывается ниже, то при отсутствии клинических симптомов следует повторить исследование или провести верификацию хламидийной инфекции с помощью молекулярно-биологического метода.

Отсутствие инфекции в месте взятия мазка-соскоба может привести к получению ложноотрицательного результата. Во избежание получения ложноположительных результатов контроль излеченности методами ПИФ или НИФ следует проводить не ранее, чем через 6-8 недель после окончания этиотропной терапии. Это связано с тем, что только к этому сроку наступает полная элиминация антигенных субстанций погибших хламидий и смена эпителиального покрова.

В настоящее время для проведения метода люминесцирующих антител выпускаются различные отечественные и импортные тест-системы с использованием поли- и моноклональных антител как к родоспецифическим (против липополисахарида хламидий), так и видоспецифическим (против основного белка наружной мембраны) антигенам *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia pneumoniae*. При использовании моноклональных антител преимущественно выявляются ЭТ, тогда как применение поликлональных хламидийных антител позволяет

выявить ЭТ, РТ, цитоплазматические включения хламидий, персистирующие и переходные формы хламидий.

Проведение иммунофлюоресцентного метода требует специального оснащения, соответствующей квалификации врача-лаборанта. К положительным качествам метода относится быстрота исполнения и достаточно высокая специфичность и чувствительность метода. К недостаткам можно отнести некоторый субъективизм в трактовке результата, невозможность автоматизации.

Антигены хламидий в эпителиальных клетках слизистой оболочки верхних дыхательных путей можно диагностировать и иммуноферментным методом. В основе этого метода лежит реакция высвобождения фермента при образовании комплексов хламидийных липополисахаридных антигенов, находящихся в клиническом материале, с поли- или моноклональными антителами к хламидийному липополисахариду (ЛПС), конъюгированными с этим ферментом. Высвобождаемый фермент действует на специальный субстратный комплекс с образованием цветного соединения, интенсивность которого определяется с помощью спектрофотометра.

Чувствительность метода составляет 62-90 % и зависит от количества возбудителя, при бессимптомном течении инфекционного процесса чувствительность снижается до 40-50 % [27]. Иммуноферментный анализ может давать ложноотрицательные результаты и большое количество ложноположительных результатов. Ложноположительный результат может иметь место при отсутствии жизнеспособных хламидий и наличии остатков их антигенов в слизистой оболочке, при присутствии в клиническом образце некоторой грамотрицательной микрофлоры и риккетсий, имеющих общие антигенные липополисахаридные детерминанты, а также в случае конъюгации диагностикума с пероксидазой, поскольку многие микроорганизмы и клетки макроорганизма обладают собственными пероксидазными системами.

Хламидии не размножаются на искусственных питательных средах, как другие бактерии, это связано с тем, что для осуществления нормального жизненного цикла им необходимы метаболиты и энергия клетки-хозяина, поэтому для выделения хламидий из исследуемого материала применяются

различные культуры клеток (L-929, McCoy, Hela-229, Her-2 и др.). Сущность культурального метода сводится к заражению хламидиями монослоя первичных или перевиваемых клеточных культур, обработанных антиметаболитами или цитостатиками.

Материал для проведения культивирования хламидийного возбудителя забирают с помощью соскоба и помещают в 1 мл транспортной среды (в фосфатный буфер с сахарозой, среда 199, среда Игла) с добавлением 5 % инактивированной нагреванием эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота, а также антимикотических средств и антибиотиков, не действующих на хламидии и подавляющие сопутствующую флору. Если нет возможности сразу доставить клинический материал в лабораторию клеточных культур, то последний можно хранить при температуре +4° С в течении суток или при -20° С не более двух недель.

После культивирования через 48-72 часа наличие хламидий определяют методом ПИФ или НИФ. Маркером хламидийной инфекции являются характерные цитоплазматические включения, окрашенные в соответствующий цвет. Выявление хотя бы одного специфического включения достаточно для констатации факта хламидийной инфекции [20].

Культивирование хламидий дает возможность выявления чувствительности хламидийных возбудителей к антибиотикам. Надо отметить, что методики определения чувствительности хламидий к антимикробным препаратам еще не сертифицированы и требуют серьезной доработки, но при их использовании значительно повышается вероятность эффективности этиотропной терапии [22, 28, 29].

Метод выделения хламидий в культуре клеток может использоваться в течение всего периода заболевания, за исключением периода антибиотикотерапии и после нее в течение 2 месяцев. Благодаря своей высокой специфичности (почти 100 %) этот метод является эталонным и представляет «золотой стандарт» лабораторного выявления хламидий [20, 22, 26, 30]. Учитывая то, что пассивные следы хламидийной инфекции в виде хламидийных антигенов и ДНК сохраняются после лечения в течение от 1 до 1,5 месяцев, не говоря о таком консервативном индикаторе как антитела, то негативный результат культурального метода может служить

опорой для суждения о микробиологическом выздоровлении.

Чувствительность культурального метода ниже, чем его специфичность и составляет, по данным разных источников, от 60 до 95 % [20, 31]. Связано это с тем, что бактериологический метод выявляет только жизнеспособные культуры, поэтому при персистирующей инфекции хламидии не выделяются. Хотя при многократных пассажах и перевивании может наступить реверсия персистирующих форм хламидий с образованием типичных ЭТ и РТ, которые затем можно верифицировать методами ПИФ, НИФ или ПЦР. Ложноотрицательный результат также можно получить при отсутствии или незначительном количестве в месте взятия клинического материала хламидийного возбудителя.

Широкомасштабное использование этого метода ограничивает высокая стоимость, требование специального оснащения и квалификации персонала, трудоемкость в его проведении и заборе материала, отсроченное получение результата (от 3 и более суток), возможность заражения персонала, снижение диагностической ценности при применении многократных курсов антибиотикотерапии.

Методы ДНК-диагностики позволяют с высокой точностью идентифицировать последовательность нуклеотидов в геноме исследуемого инфекционного микроорганизма. Неправильный забор и хранение клинического материала может привести к ложноотрицательным результатам (снижению чувствительности метода из-за невозможности выделения ДНК или РНК вследствие их полного или частичного разрушения) и ложноположительным результатам (снижение специфичности метода из-за загрязнения контаминированными микроорганизмами исследуемых образцов) результатам. До транспортировки в лабораторию образцы хранят при температуре 2-4° С не более 48 часов или до 1 месяца при температуре -20° С. При инаktivации фермента, разрушающего ДНК (ДНК-азы), образцы для проведения методов амплификации нуклеиновых кислот можно хранить в течение многих лет.

К преимуществам молекулярно-биологических методов относятся: ранняя диагностика хламидийной инфекции у серонегативных больных, выявление бессимптомных форм хламидиоза, отсроченный контроль после лечения, возможность определения

широкого спектра возбудителей в одном клиническом образце. В настоящее время ведутся разработки по использованию методов амплификации нуклеиновых кислот для изучения генов вирулентности и генов антибиотикорезистентности хламидий [22].

В основе метода ПЦР лежит внесение в образец, предположительно содержащий хламидии, синтезированных олигонуклеотидных последовательностей (праймеров), комплементарных к генетическому материалу хламидий. В результате взаимодействия праймеров с ДНК или РНК хламидий при наличии определенных метаболитов происходит избирательное многократное размножение (амплификация) участка нуклеиновой кислоты, который задается при выборе праймеров. В результате амплификации специфической генетической последовательности хламидийной молекулы ДНК образуется копии, которые затем обнаруживаются с помощью электрофореза в геле или методом гибридизации (связывания) со специфическими олигонуклеотидными зондами с последующим выявлением гибридов методом ИФА.

В настоящее время в медицинской практике активно используется новый метод — ПЦР в реальном времени. Суть его заключается в численной оценке накопления продуктов полимеразной цепной реакции при автоматической фиксации и расшифровке результатов. Применение этого метода анализа исключает стадию электрофореза, что дает возможность предотвратить ложноположительные результаты, исключив контаминацию, обнаружить даже одну молекулу дезоксирибонуклеиновой кислоты в пробе и существенно сократить время для получения результата [32, 33].

Другая молекулярно-генетическая диагностическая методика прямого выявления возбудителя - лигазная цепная реакция - является менее распространенной в сравнении с методикой амплификации нуклеиновых кислот полимеразной цепной реакцией. В основе этого метода лежит лигирование (сшивание) ДНК-лигазой двух пар комплементарных олигонуклеотидов после их гибридизации с геномной ДНК хламидий. Некоторые исследователи отмечают, что по специфичности лигазная цепная реакция превосходит полимеразную цепную реакцию [34].

Для прямой детекции генетического материала хламидий в настоящее время также применяется

транскрипционная амплификация, которая пока не относится к стандартным лабораторным методам и используется, в основном, в научных целях. В основе транскрипционной амплификации лежит копирование специфической рибосомой РНК-мишени возбудителя посредством транскрипции и гибридизационной защиты. Амплификация РНК-мишени происходит с образованием промежуточных ДНК-продуктов, а образующиеся стабильные гибриды РНК-ДНК распознаются в люминесцентном микроскопе.

Специфичность и чувствительность методов ДНК-диагностики максимально высокие – 90-100 % [26, 27, 30, 31]. Однако высокая чувствительность этих методов может стать причиной получения ложноположительных результатов при контроле излеченности, так как фрагменты нуклеиновых кислот погибших хламидий могут определяться в течение 1,5-2 месяце после окончания этиотропной терапии, а также в результате контаминирования материала «посторонними» хламидиями. Получение ложноотрицательного результата возможно при отсутствии хламидийного возбудителя в месте забора мазка, при разрушении генома возбудителя и его низкой концентрации в клиническом материале.

По серологическим методам диагностики хламидийной инфекции судят о состоянии гуморального иммунитета, все они основаны на выявлении хламидийных антител, определяемых при комплементарном взаимодействии с хламидийным антигеном. Из существующих на сегодняшний день серологических методов в диагностике хламидийной инфекции используют реакцию связывания комплемента (РСК), реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА), реакцию непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), иммуноферментный анализ (ИФА).

В основе всех методов серологической диагностики лежит определение родоспецифических либо видоспецифических хламидийных антител в сыворотке крови с помощью диагностикумов в виде хламидийных антигенов, адсорбированных на тех или иных носителях (эритроциты, частицы латекса). При невозможности проведения исследования сразу же после забора клинического материала, образцы могут храниться в течение 2 недель при -20°C .

РСК это многокомпонентная непрямая серологическая реакция, в которой участвуют хламидийные антигены, антитела и индикаторная система, содержащая комплемент, эритроциты барана и гемолитическую сыворотку. При соответствии антигенов и антител связывается комплемент и лизис эритроцитов не происходит, они оседают на дно пробирки. При отрицательном результате комплекс «антиген-антитело» не образуется, комплемент остается свободным и происходит лизис эритроцитов. Диагноз считается положительным при выявлении антител в титрах 1:64 или наличия сероконверсии, определяемой в повторных анализах.

К недостаткам РСК относится невозможность определения различных классов иммуноглобулинов и проведения видовой идентификации хламидии, так как этим методам выявляются антитела только к ЛПС хламидий. Хотя этот метод не требует специального оборудования, позволяет одновременно обследовать большое количество сывороток и является высокочувствительным по выявлению антител многих бактерий, вирусов и грибов, но по отношению к хламидиям не нашел широкого применения в связи с низкой продукцией специфических иммуноглобулинов. Поэтому в настоящее время его рекомендуют применять только при подозрении на генерализацию хламидийной инфекции.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) также не имеет высокой диагностической ценности при диагностике хламидийной инфекции верхних дыхательных путей, что связано с невозможностью достоверно диагностировать *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydophila pneumoniae* из-за возможных перекрестных реакций с риккетсиями Провачека и некоторыми грамотрицательными бактериями. В основу этого метода положена адсорбция комплекса родо- или видоспецифических хламидийных антигенов и антител на эритроцитах, которые выпадают в осадок. По мнению некоторых авторов, РНГА можно использовать при массовом скрининге [30], а также в диагностике персистирующей инфекции при превышении диагностического титра в 4 и более раз [22, 35].

Антитела к хламидиям можно обнаружить и в реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), основанной на использовании очищенных специфических хламидийных антигенов различных серотипов, находящихся в виде фиксиро-

ванных точек на стекле. После нанесения на стекло исследуемой сыворотки, содержащей хламидийные антитела, образуются иммунные комплексы «антиген-антитело», выявляемые при люминесцентной микроскопии после обработки стекла конъюгатом видоспецифической антиглобулиновой сыворотки с флюорохромом (антивидовой люминесцирующей сыворотки).

Достоинствами РНИФ в диагностике хламидийных антител является возможность определения отдельных классов иммуноглобулинов, в том числе и антител различных штаммов хламидий. Выявление антител методом РНИФ в титрах 1:8 и 1:16 может свидетельствовать о возможной хламидийной инфекции или о наличии следовой реакции после перенесенной в прошлом хламидийной инфекции. Диагностическую ценность имеют титры антител более 1:64.

Для серологической диагностики антител в настоящее время наиболее часто используется иммуноферментный анализ (ИФА). Применяемые сегодня иммуноферментные тест-системы для выявления хламидийных антител методом ИФА более чувствительные, чем тест-системы для выявления хламидийных антигенов этим же методом. Это связано с тем, что в качестве антигена в диагностических системах используются не только родоспецифические фрагменты ЛПС, но и видоспецифические белковые детерминанты МOMP, обеспечивающие четкую видовую диагностику. Достоинством ИФА является возможность определения иммуноглобулинов классов G, A и M.

Сущность ИФА заключается в том, что хламидийный антиген фиксируется на твердой поверхности и обрабатывается исследуемой сывороткой и антивидовым иммуноглобулином, связанным с ферментом, который при положительном результате реакции включается в комплекс «антиген-антитело», регистрируемый по изменению окраски, интенсивность которой определяется визуально или чаще с помощью спектрофотометра.

Чувствительность ИФА для определения хламидийных антител колеблется в зависимости от применяемых тест-систем от 75 % до 95 %, специфичность - от 70 % до 95 % [20, 21, 28]. К недостаткам и ограничениям применения ИФА для идентификации противохламидийных иммуноглобулинов

можно отнести требования специального оснащения и высокой квалификации врачей-лаборантов.

Для выявления антител иммуноферментным анализом в настоящее время применяются различные отечественные и импортные тест-системы, отличающиеся ценой, разной технологией изготовления, степенью очистки и качества, специфичностью и чувствительностью, возможностью качественного или количественного выявления родо- или видоспецифичных антител и их классов. При выборе определенной тест-системы нужно руководствоваться целями назначения ИФА, а также знаниями относительно слабых и сильных сторон той или иной тестирующей системы.

Трактовка позитивных результатов серологических методов требует большой осторожности и деликатности, учета длительности течения и выраженности клинических проявлений, а также обязательного подтверждения хламидийной инфекции методами прямого обнаружения хламидий, их антигенов, нуклеиновых кислот в клинических образцах.

Положительные результаты серологического анализа не позволяют выявить очаг хламидийной инфекции, но при наличии отрицательного результата прямого метода выявления хламидийного возбудителя из предполагаемого очага поражения нацеливают врача на повторную индикацию возбудителя или на поиск другой локализации хламидий. Необходимо учитывать и тот факт, что отрицательные результаты серологических тестов не исключают наличие персистирующей хламидийной инфекции.

Поскольку хламидии обладают слабой антигенной активностью, наработка и накопление антител в инфицированном макроорганизме происходит в небольших количествах, поэтому ИФА наиболее информативен при первичной острой инфекции и в период реактивации хронической инфекции. Диагностическая значимость ИФА-теста по выявлению хламидийных антител значительно повышается в случаях генерализации хламидийной инфекции.

К недостаткам иммуноферментного анализа, как и других иммунохимических методов обнаружения антител, относится то, что тесты остаются положительными (выявление диагностических титров хламидийных антител) после лечения в течение

1,5-2 месяцев, поэтому их нельзя использовать в качестве маркера выздоровления в течение этого срока. При этом не надо забывать, что даже у здорового населения может отмечаться фоновый титр антител к хламидиям в результате широких контактов с хламидиями, не приведших к развитию инфекции или у переболевших и самостоятельно выздоровевших лиц.

При анализе результатов ИФА необходимо учитывать тот факт, что концентрация антител зависит не только от иммунореактивности организма, но и от скорости их элиминации, поэтому «остаточная серология» может иметь место достаточно длительное время. Так, хламидийные антитела класса IgG после перенесенной хламидийной инфекции могут сохраняться в небольших титрах более года.

Методом ИФА практически невозможно диагностировать свежую инфекцию (IgM-фазу) верхних дыхательных путей вследствие невыраженного антигенного раздражения и наличия повторных контактов с хламидиями. Однако, диагностическая значимость IgM-теста достаточно высока при хламидийной пневмонии новорожденных. Из-за слабой антигенной нагрузки при местном процессе наработка сывороточных антител в диагностических титрах происходит лишь у 7-36% больных с патологией респираторного тракта [36, 37, 38, 39, 40].

Теоретически при острой хламидийной инфекции верхних дыхательных путей с выраженной симптоматикой возможно выявление через 5-6 дней IgM, но как сказано выше практически это бывает редко, исключение составляют новорожденные дети. Хламидийные антитела класса IgA, как в сыворотке крови, так и в секрете слизистых оболочек, могут обнаруживаться уже к 10-12 дню. А к концу третьей недели после инфицирования возможно и выявление противохламидийных IgG, которые при переходе инфекции в хроническую форму могут регистрироваться постоянно.

При реинфекции и реактивации может возникать скачкообразный подъем титра противохламидийных IgG и IgA. Для обострений хронической хламидийной инфекции верхних дыхательных путей с активным ответом гуморального иммунитета характерны низкие и средние диагностические титры антител, а также сероконверсия в виде 4-х кратного и более увеличения титров. Снижение

титра антител в процессе лечения в 2-3 раза свидетельствует об эффективности проводимых лечебных мероприятий.

Однако при этом нужно учитывать, что титр антител может оставаться достаточно высоким в течение нескольких месяцев после полной элиминации возбудителя, а также и то, что в периоде ремиссии при хроническом течении хламидиоза могут наблюдаться низкие значения диагностических титров IgG. Характерным для персистирующей хламидийной инфекции в некоторых случаях является повышение титров секреторного IgA при незначительных титрах IgG.

При воспалительных заболеваниях носа, его придаточных пазух и глотки с целью суждения об активности местного иммунитета достаточно информативным является определение методом ИФА концентрации противохламидийного секреторного IgA. ИФА удобен и для скрининговых исследований, так как при достаточной чувствительности и специфичности метода и простоте его исполнения, имеется возможность одновременного обследования большого числа лиц с приборной и объективной оценкой результатов.

Заключение

Анализ информации по диагностике хламидийной инфекции, представленный в различных литературных источниках и касающийся, в основном, урогенитальной патологии, а также собственный опыт по выявлению хламидиоза верхних дыхательных путей, свидетельствует о том, что прежде всего необходимо доказать наличие возбудителя в очаге воспаления, а не следов его нахождения в виде противохламидийных антител, которые могут сохраняться в организме человека несколько лет.

Самым специфичным методом непосредственного обнаружения хламидий в эпителиальных клетках респираторного тракта, но в тоже время самым трудоемким, дорогостоящим и недостаточно распространенным и экстренным, является бактериологический метод культивирования возбудителя *in vitro* на чувствительных клетках. Отрицательный результат бактериологического анализа является пока единственным доказательством отсутствия живых хламидий и объективным подтверждением эффективности проведенной эрадикационной терапии.

Самым чувствительным тестом идентификации хламидий является молекулярно-биологические методы, уступают им в эффективности иммунофлюоресцентные анализы. К сожалению, отрицательные результаты иммунофлюоресцентного анализа и ДНК-диагностики являются отсроченными маркерами выздоровления. Это обусловлено тем, что, результаты этих тестов остаются позитивными в течение 1,5-2 месяцев после окончания этиотропной терапии до тех пор, пока не элиминируются пассивные следы инфекции (остатки структур хламидий, погибшие микроорганизмы). Цитологические методы из-за низкой чувствительности мы не рекомендуем применять для диагностики хламидийной инфекции верхних дыхательных путей.

Для подтверждения хламидийной инфекции респираторного тракта, суждении о реакции на нее макроорганизма и контроля эффективности проводимой терапии, для уточнения особенностей течения и стадии заболевания информативным является иммуноферментный анализ сыворотки крови по выявлению хламидийных антител.

Неравнозначное диагностическое значение разных методов лабораторной диагностики хламидийного поражения верхних дыхательных путей определяет необходимость комплексного использования, что значительно повышает достоверность и качество лабораторных анализов. Оптимальным для идентификации хламидийного возбудителя является применение не одного, а двух методов его прямого выявления (например, ПЦР и ПИФ), а также обязательного использования метода косвенного доказательства его присутствия – ИФА.

Необходимость применения двух прямых методов обусловлена вероятностью получения как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов. Доказательством этому послужили проведенные нами исследования, показавшие, что при верификации хламидий одним из наиболее чувствительных тестов как ПЦР, хламидийная инфекция не была подтверждена у 17,8 % обследованных лиц. Хотя другие лабораторные тесты (ПИФ и ИФА) обнаружили хламидийный возбудитель.

Результаты лабораторных методов идентификация хламидийного возбудителя обязательно должны сопоставляться с анамнестическими сведениями, клиническими проявлениями заболевания и данными объективного осмотра ЛОР-органов.

Литература/References

1. Карпова ЕП, Тулупов ДА. О роли различных этиологических факторов в развитии хронической патологии носоглотки у детей. *Лечащий врач*. 2013;(1):26-29. [Karpova EP, Tulupov DA. On the role of various etiological factors in the development of chronic nasopharyngeal pathology in children. *Lechaschj Vrach*. 2013;(1):26-29. (In Russian)]
2. Крюков АИ, Гуров АВ, Изотова ГН. Возможности современных макролидов в стартовой терапии острого бактериального синусита. *Российский медицинский журнал*. 2012;20(27):1374-1377. [Kryukov AI, Gurov AV, Izotova GN. Possibilities of modern macrolides in the starting therapy of acute bacterial sinusitis. *Medical Journal of the Russian Federation*. 2012;20(27):1374-1377.(In Russian)]
3. Морозова СВ. Актуальные аспекты использования фторхинолонов в ЛОР-практике. *Российский медицинский журнал*. 2013; (11): 553-557. [Morozova SV. Actual aspects of the use of fluoroquinolones in ENT practice. *Medical Journal of the Russian Federation*. 2013;(11):553-557. (In Russian)]
4. Островская ОВ, Морозова НВ, Морозова ОИ, Холодок НГ, Наговицина ЕБ, Ивахнишина НМ, Власова МА, Козлов ВК. Респираторный хламидиоз у детей. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2012;(45):62-68. [Ostrovskaja OV, Morozova NV, Morozova OI, Holodok NG Nagovicina EB, Ivahnishina NM, Vlasova MA, Kozlov VK. Respiratory chlamydia in children. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2012;(45):62-68. (In Russian)]
5. Савенкова МС, Афанасьева АА. Хламидиоз у детей: современные аспекты лечения. *Эпидемиология и инфекции*. 2012;(1):6-12. [Savenkova MS, Afanas'eva AA. Chlamydia in children: modern aspects of treatment. *Epidemiologija i Infekcii*. 2012;(1):6-12. (In Russian)]
6. Тюркина СИ, Минасян ВС, Савенкова МС. Особенности течения хронического аденоидита у часто болеющих детей, инфицированных герпесвирусами и атипичными патогенами. *Вестник РГМУ*. 2015;(1):34-37. [Tjurkina SI, Minasjan VS, Savenkova MS. Features of the course of chronic adenoiditis in frequently ill children infected with herpes viruses and atypical pathogens. *Vestnik RSMU*. 2015;(1):34-37. (In Russian)]
7. Башмакова МА. Актуальные вопросы диагностики и лечения хламидийных инфекций.

М.;1990.8с. [Bashmakova MA. Actual problems of diagnosis and treatment of chlamydial infections. Moscow;1990.8p. (In Russian)]

8. Запруднов АМ, Съемщикова ЮП, Бадяева СА, Рудинцева НВ. Особенности хламидийной инфекции у детей с нефрологической, урологической и гинекологической патологией. *Педиатрия*. 1999;(1):23-26. [Zaprudnov AM, S'yemshchikova YUP, Badyayeva SA, Rudintseva NV. Features of chlamydial infection in children with nephrologic, urological and gynecological pathology. *Pediatrics*. 1999;(1):23-26. (In Russian)]

9. Филин ВФ, Рудинцева НВ, Ситкина ЛН. Инфекция, вызванная *Chlamidia trachomatis* у детей: частота выявления, диагностика и лечение. *Педиатрия*. 1999;(1):20-22. [Filin VF, Rudintseva NV, Sitkina LN. Infection caused by *Chlamidia trachomatis* in children: frequency of detection, diagnosis and treatment. *Pediatrics*. 1999;(1):20-22. (In Russian)]

10. Мазанкова ЛН. Хламидийная инфекция у детей. *Медицинская помощь*. 2002; (2): 3-10. [Mazankova LN. Chlamydial infection in children. *Meditinskaya Pomoshch'*. 2002;(2):3-10. (In Russian)]

11. Balin BJ, Gerard HC, Arking ET, Appelt DM, Branigan PJ, Abrams JT. Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *Journal of Medical Immunology*. 1998;(187):23-42.

12. Ellis RW. Infection and coronary heart disease. *Journal of Medical Microbiology*. 1997;(48):535-539.

13. Позняк АЛ, Сидорчук СН, Тарасов АВ. *Chlamydia pneumoniae*-инфекция как фактор риска развития атеросклероза (обзор литературы). *Журнал инфектологии*. 2013;5(1):18-27. [Poznjak AL, Sidorchuk SN, Tarasov AV. *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for atherosclerosis (literature review). *Journal Infectology*. 2013;5(1):18-27. (In Russian)]

14. Демченко ЕВ, Иванченко ГФ, Прозоровская КН, Бочаров АФ, Бойкова НЭ. Клиника и лечение хламидийного ларингита с применением амиксина. *Вестник оториноларингологии*. 2000;(5):58-60. [Demchenko EV, Ivanchenko GF, Prozorovskaya KN, Bocharov AF, Boykova NE. Clinics and treatment of chlamydial laryngitis with amixin. *Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2000;(5):58-60. (In Russian)]

15. Линьков ВИ, Цурикова ГП, Нуралова ИВ, Панькина НА. Значение хламидийной инфекции в развитии хронических воспалительных заболева-

ний глотки. *Новости оториноларингологии и логопатологии*. 1995;3(4):164. [Lin'kov VI, TSurikova GP, Nuralova IV, Pan'kina NA. The importance of Chlamydia infection in the development of chronic inflammatory diseases of the pharynx. *News Of Otorhinolaryngology And Logopathology*. 1995;3(4):164. (In Russian)]

16. Капустина ТА, Белова ЕВ, Маркина АН, Парилова ОВ, Кин ТИ. Клинико-эпидемиологические особенности хламидийной инфекции верхнего отдела дыхательных путей у детей. Красноярск; 2014. 118 с. [Kapustina TA, Belova EV, Markina AN, Parilova OV, Kin TI. Clinico-epidemiological features of chlamydial infection of the upper respiratory tract in children. Krasnoyarsk; 2014. 118 p. (In Russian)]

17. Пальчун ВТ, Крюков АИ, Магомедова ММ. Руководство по очаговой инфекции в оториноларингологии. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.244с. [Pal'chun VT, Krjukov AI, Magomedova MM. Guide to focal infection in otolaryngology. Moscow: GEOTAR-Media; 2015.244p. (In Russian)]

18. Пальчун ВТ, Гуров АВ, Руденко ВВ. Хламидийная и микоплазменная инфекция в оториноларингологии (Систематический обзор). *Вестник оториноларингологии*. 2012;(6):91-97. [Pal'chun VT, Gurov AV, Rudenko VV. Chlamydia and mycoplasma infections in otorhinolaryngology (Systematic review). *Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2012;(6):91-97. (In Russian)]

19. Смородинова ЕА, Пикуза ОИ. Хламидиозы у детей: неизвестное об известном. *Практическая медицина*. 2014;9(85):60-66. [Smorodinova EA, Pikuza OI. Chlamydia in children: an unknown about the known. *Practical Medicine*. 2014;9(85):60-66. (In Russian)]

20. Дмитриев ГА. Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций. М.: Медицинская книга; 2007. 332 с. [Dmitriyev GA. Laboratory diagnosis of bacterial urogenital infections. Moscow: Meditsinskaya kniga; 2007. 332 p. (In Russian)]

21. Кротов СА, Кротова ВА, Юрьев СЮ. Хламидиозы: эпидемиология, характеристика возбудителя, методы лабораторной диагностики, лечение генитального хламидиоза. Кольцово; 1998. 62 с. [Krotov SA, Krotova VA, YUr'yev SYU. Chlamydia: epidemiology, characteristics of the pathogen, methods of laboratory diagnosis, treatment of genital chlamydia. Koltsovo; 1998. 62 p. (In Russian)]

22. Лобзин ЮВ, Ляшенко ЮИ, Позняк АЛ. Хламидийные инфекции. СПб.: Фолиант; 2003. 396 с. [Lobzin YUV, Lyashenko YUI, Poznyak AL. Chlamydial infections. SPb.: Foliant; 2003. 396 p. (In Russian)]
23. Мартынова ВР, Колкова НИ, Шаткин АА. Хламидии и хламидиозы клиника, биология и диагностика. *Российский медицинский вестник*. 1997;(3):49-55. [Martynova VR, Kolkova NI, Shatkin AA. Chlamydia and chlamydiosis clinic, biology and diagnostics. *Russian Medical Bulletin*. 1997;(3):49-55. (In Russian)]
24. Ремезов АП, Неверов ВА, Семенов НВ. Хламидийные инфекции (клиника, диагностика, лечение). СПб.; 1995. 38 с. [Remezov AP, Neverov VA, Semenov NV. Chlamydial infections (clinic, diagnosis, treatment). SPb.; 1995. 38 p. (In Russian)]
25. Маянский АН. Микробиология для врачей. Нижний Новгород: НГМА; 1999. 392 с. [Mayanskiy AN. Microbiology for doctors. Nizhny Novgorod: NGMA; 1999. 392 p. (In Russian)]
26. Гранитов ВМ. Хламидиозы. М.: Медицинская книга; 2002. 187 с. [Granitov VM. Chlamydia. Moscow: Meditsinskaya kniga; 2002. 187 p. (In Russian)]
27. Запруднов АМ, Съемщикова ЮП, Бадяева СА, Рудинцева НВ. Особенности хламидийной инфекции у детей с нефрологической, урологической и гинекологической патологией. *Педиатрия*. 1999;(1):23-26. [Zaprudnov AM, Syemshchikova YUP, Badyayeva SA, Rudintseva NV. Features of chlamydia infection in children with nephrologic, urological and gynecological pathology. *Pediatrics*. 1999;(1):23-26. (In Russian)]
28. Лобзин ЮВ, Позняк АЛ, Раевский КК, Михайленко АА, Симбирцев АС, Нуралова ИВ, Бойко ЭВ. Диагностика и лечение генерализованных форм хламидиоза у молодых людей. Учебное пособие. СПб.; 2000. 92 с. [Lobzin YuV, Poznyak AL, Rayevskiy KK, Mikhaylenko AA, Simbirtsev AS, Nuralova IV, Boyko EV. Diagnosis and treatment of genetically engineered forms of chlamydia in young people. Tutorial. SPb.; 2000. 92 p. (In Russian)]
29. Сидоренко СВ. Антибактериальная терапия инфекций, вызываемых *Chlamydia trachomatis*. *Антибиотики и химиотерапия*. 2001;46(2):1-8. [Sidorenko SV. Antibiotic therapy for infections caused by *Chlamydia trachomatis*. *Antibiotics And Chemotherapy*. 2001;46(2):1-8. (In Russian)]
30. Гавалов СМ. Хламидиоз - дисбактериоз, интегральные взаимоотношения. Новосибирск: РТФ; 2003. 218 с. [Gavalov SM. Chlamydia - dysbiosis, integral relationships. Novosibirsk: RTF; 2003. 218 p. (In Russian)]
31. Прохоренков ВИ, Шапран МВ. Современные принципы диагностики и лечения урогенитального хламидиоза: учебно-методическое пособие. Красноярск; 2000. 39 с. [Prokhorenkov VI, Shapran MV. Modern principles of diagnosis and treatment of urogenital chlamydiosis: a teaching aid. Krasnoyarsk; 2000. 39 p. (In Russian)]
32. Государственный комитет санитарно-эпидемиологического надзора РФ. Методические рекомендации по проведению работ в диагностических лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции. М.; 1995. С. 3-4. [State Committee of Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Russian Federation. Methodical recommendations for work in diagnostic laboratories using the polymerase chain reaction method. Moscow; 1995. P. 3-4. (In Russian)]
33. Bustin SA. Absolute quantification of mRNA using realtime reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2000, (25): 169-193.
34. Gaydos CA, Howell MR, Quinn TC, Gaydos JC, McKee KT. Use of ligase chain reaction with urine versus cervical culture for detection of *Chlamydia trachomatis* in an asymptomatic military population of pregnant and nonpregnant females attending Papanicolaou smear clinics. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998; (36): 1300-1304.
35. Болтович ФВ, Чернецов ЛФ, Ермаков НВ. Урогенитальный хламидиоз у женщин: Методическое пособие. Тюмень: Вектор-Бук; 1999. 48 с. [Boltovich FV, Chernetsov LF, Ermakov NV. Urogenital chlamydia in women: A methodical guide. Tyumen: Vektor-Buk; 1999. 48 p. (In Russian)]
36. Самсыгина ГА. Клиническая эффективность некоторых макролидных антибиотиков при острой инфекции нижних отделов дыхательных путей у детей. *Инфекция и антимикробная терапия*. 2000;(2):40-41. [Samsygina GA. Clinical efficacy of some macrolide antibiotics in acute infection of the lower respiratory tract in children. *Infection And Antimicrobial Therapy*. 2000;(2):40-41. (In Russian)]

37. Самсыгина ГА, Ахмина НИ, Скирда ТА, Охлопкова КА, Суслова ОВ. Хламидийная этиология заболеваний нижних отделов дыхательных путей у детей раннего возраста. *Педиатрия*. 2001;(5):40-42. [Samsygina GA, Akhmina NI, Skirda TA, Okhlopkova KA, Suslova OV. Chlamydial etiology of diseases of the lower respiratory tract in young children. *Pediatrics*. 2001;(5):40-42. (In Russian)]

38. Катосова ЛК, Спичак ТВ, Бобылев ВА, Мартынова ВР, Колкова НИ. Этиологическое значение *Chlamydia pneumoniae* у детей с рецидивирующими и хроническими болезнями легких. *Вопросы современной педиатрии*. 2003;2(1):47-50. [Katosova LK, Spichak TV, Bobylev VA, Martynova VR, Kolkova NI. The etiological significance of *Chlamydia pneumoniae* in children with recurrent and chronic lung diseases. *Current Pediatrics*. 2003;2(1):47-50. (In Russian)]

39. Шамансурова ЭА, Панкратова ВН. Частота выявления хламидийных антител при респираторной патологии у детей. *Вопросы охраны материнства и детства*. 1988;(9):32-34. [Shamansurova EA, Pankratova VN. Frequency of detection of chlamydial antibodies in respiratory pathology in children. *Maternal And Child Health Issues*. 1988;(9):32-34. (In Russian)]

40. Капустина ТА, Белова ЕВ. Особенности течения верхнечелюстного синусита у детей с верифи-

цированной хламидийной инфекцией. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013;(10):22-25. [Kapustina TA, Belova EV. Features of the course of the maxillary sinusitis in children with verified chlamydial infection. *Bulletin Of The Russian Academy Of Medical Sciences*. 2013;(10):22-25. (In Russian)]

Сведения об авторах

Белова Елена Валентиновна, к.м.н., Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3з; тел.: +79029430570; e-mail: belova.ev@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5020-1500>

Капустина Татьяна Анатольевна, д.м.н., Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3з; тел.: +79080219902, e-mail: TAK34@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2599-596X>

Маркина Ангела Николаевна, к.м.н., Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3з; тел.: +79029224623, e-mail: Angel.lor.ru@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9539-4417>

Парилова Ольга Владимировна, к.м.н., Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3з; тел.: +79130343780, e-mail: Olga_lor@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2948-9658>

Author information

Elena V. Belova, Cand.Med.Sci., Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3 g Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +79029430570; e-mail: belova.ev@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5020-1500>

Tatiana A. Kapustina, Dr.Med.Sci., Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3 g Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +79080219902, e-mail: TAK34@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2599-596X>

Angela N. Markina, Cand.Med.Sci., Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3 g Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +79029224623, e-mail: Angel.lor.ru@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9539-4417>

Olga V. Parilova, Cand.Med.Sci., Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3 g Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +79130343780, e-mail: Olga_lor@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2948-9658>

Поступила 28.06.2018 г.

Принята к печати 06.12.2018 г.

Received 28 June 2018

Accepted for publication 06 December 2018