



Спонтанный хламидиоз у обезьян как модель хламидийной инфекции

В.В.Слободенюк¹, Н.Н.Каркищенко^{1,4}, С.С.Афанасьев¹, Б.А.Лапин²,
В.А.Алешкин¹, А.В.Караулов³, Ю.В.Несвижский³, С.Ю.Пчелинцев¹,
Э.К.Джикидзе², М.С.Афанасьев³, Е.А.Воропаева¹

¹ – Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского, Москва

² – НИИ медицинской приматологии РАМН, Сочи – Адлер

³ – Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва

⁴ – Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

Контактная информация:

Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского,
125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10; Тел. (495)708 - 02 - 62, e-mail: info@gabrich.com.

НИИ медицинской приматологии РАМН, 354376, Сочи – Адлер, Веселое – 1;
Тел. (8622) 42 - 22 - 39, e-mail: blapin@yandex.ru.

Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая,
8, стр. 2; Тел. (495)248 - 71 - 07, e-mail: nesviz@mail.ru.

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, e-mail: niknik2808@yandex.ru.

Впервые описаны проявления и течение хламидийной инфекции у низших обезьян. Применение разработанных тест – систем верификации хламидий до вида, а также плазмидных и бесплазмидных вариантов *Ch. trachomatis* позволило повысить диагностическую значимость культурального метода. Установлена роль плазмиды у *Ch. trachomatis*, как фактора вирулентности. Выявлена в 52,4% случаев циркуляция бесплазмидных вариантов *Ch. trachomatis*. Установлена принадлежность штаммов *Ch. trachomatis* к генотипам E (бесплазмидный) и G (плазмидосодержащий). Штаммы различаются по способности аккумулировать гликоген в хламидийных включениях в культуре клеток (у плазмидных вариантов), а также по экспрессии гена *incA* на уровне белка. Генотипические и фенотипические свойства штаммов обуславливают характер и тяжесть инфекционного процесса. Предложенные модифицированные культуральный и молекулярно – генетические методы для верификации хламидий объективизируют оценку генотипических и фенотипических свойств хламидий, оценивают выраженность инфекционного процесса и прогнозируют исход хламидийной инфекции. Выявлено филогенетическое родство штаммов, выделенных от обезьян, со штаммами, выделяемыми от человека. Приматы со спонтанной хламидийной инфекцией могут применяться в качестве модели для апробации фармакологических препаратов.

Ключевые слова: хламидии, генотип, штаммы, модель, обезьяны, хламидиоз.

Инфекционные заболевания, вызываемые облигатными внутриклеточными микроорганизмами семейства *Chlamydiaceae*, являются одной из ак-

туальных задач современного здравоохранения, ввиду широкого распространения их во всем мире [2, 3, 4]. Среди группы возбудителей хламидийных инфек-

ций животных и человека, известных под общим названием «хламидиозы», особое значение для медицины представляют хламидии двух родов *Chlamydia* и *Chlamydophila*, носящие антропонозный характер: вид *Chlamydia trachomatis*, вызывающий различные урогенитальные заболевания (уретрит, цервицит, эндометрит, простатит, орхит и др.), патологию беременности и родов, некоторые формы артрита, трахома, лимфогранулему венерум, патологию органов дыхания, офтальмию новорожденных, и вид *Chlamydophila pneumoniae* (биовар TWAR), являющийся респираторным возбудителем, а также играющий роль в патологии сердечно – сосудистой системы и головного мозга (атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, инсульт, транзиторные нарушения кровообращения мозга, болезнь Альцгеймера) [17, 21].

Данные литературы свидетельствуют тому, что клиническое проявление хламидиоза связано с генотипом, определяющим патологию. Генотипы А, В, Ва и С ассоциированы с классической эндемичной трахомой; генотипы от D до K вызывают урогенитальную патологию (уретриты, эпидидимиты, цервициты, сальпингиты, патологию беременности и родов и др.); генотипы от L1 до L3 являются возбудителями венерической лимфогранулемы. Также было установлено, что генотипы G, I и D связаны с возникновением цервикальной клеточной карциномы, а хронические инфекции, вызванные генотипом K у женщин, приводят к бесплодию [10, 18, 20].

Патогенетический потенциал хламидий *Ch. trachomatis* также связан с носительством вне хромосомной генетической информации – плазмиды [23, 27]. Плазида играет важную роль в жизне-

деятельности *Chl. trachomatis*. Это связано, прежде всего, с тем, что плазида кодирует одной из своих рамок считывания ORF3 полипептид *pgr3*, который непосредственно входит в структуру мембраны хламидий и индуцирует выработку провоспалительных цитокинов в макрофагах, активизируя воспалительную реакцию в организме человека при заражении [27]. Плазида также контролирует процесс аккумуляции гликогена в хламидийных включениях, что объясняется присутствием в плазмиде последовательностей специфичных хромосомным генам (*pgi*, *mrsA1*, *glgA*, *glgB*, *glgX* и *glgP*), отвечающих за метаболизм гликогена и выполняющих функцию транскрипционного регулятора [12, 14]. Штаммы *Ch. trachomatis*, не несущие криптическую плазмиду, вызывают асимптоматическую картину течения заболевания [23]. Исследования по выявлению степени вирулентности штаммов показали, что 50% инфицирующая доза бесплазмидного штамма в 400 раз превышает аналогичную дозу штамма, несущего плазмиду [12].

Вирулентность хламидий обусловлена способностью непрерывно инфицировать клетки, образующиеся в процессе деления материнской клетки, в месте поражения. Это так называемое каскадное инфицирование, за которое отвечает белок, входящий в состав мембраны включений хламидий – *IncA* [24]. Он не только отвечает за вакуолизацию хламидийных включений, но и за образование вторичных включений, формирующих внутриклеточные ниши (микротрубочки), в которых происходит цикл развития телец хламидий [22, 25]. Отсутствие экспрессии белка *IncA* приводит к замедлению деления ретикулярных телец хламидий в клетке. Штаммы *Ch. trachomatis*,

которые не экспрессируют данный белок, продуцируют множественные включения в клетке и вызывают субклиническую картину течения хламидийной инфекции [25].

Для более детального изучения жизненного цикла хламидий, особенностей структуры генома штаммов хламидий и непосредственной связи фенотипических и генотипических свойств штаммов между собой, что может помочь в разработке новых методов диагностики, лечения и профилактики, а также созданию препаратов бактерицидного действия и новых иммуномодулирующих препаратов, вакцин с целью наиболее эффективного лечения и профилактики хламидиоза, необходимо применение оптимальной экспериментальной биологической модели. По эволюционному родству и принадлежности человека к отряду приматов использование обезьян для экспериментального изучения хламидий антропонозного характера является наиболее адекватным.

Известны работы, посвященные попыткам экспериментального заражения обезьян хламидиями, выделенными от человека с воспалительными заболеваниями органов малого таза, уретритами, цервицитами, эпидидимитами, в результате чего была доказана высокая восприимчивость данных животных к хламидиям [19, 26]. Однако прежде чем рассматривать обезьян как экспериментальную модель для изучения хламидийных инфекций, необходимо знать, имеют ли обезьяны свою собственную хламидийную патологию, что может быть использовано как модель для изучения хламидийной инфекции человека без предварительного заражения в эксперименте.

Таким образом, *целью* исследования являлось проведение оценки возможности использования спонтанной хлами-

дийной инфекции у обезьян как патогенетической модели хламидийной инфекции человека.

Материалы и методы

Материалом исследования служил клинический и патологоанатомический материал от 269 низших обезьян разного вида (из которых 49 детенышей и новорожденных), обоего пола и разного возраста (от 0 дней до 27 лет): африканские обезьяны – павианы гамадрилы, павианы анубисы, зеленые мартышки, макак магот; азиатские – макаки яванские, макаки резусы, макаки лапундеры, и южноамериканская широконосая обезьяна – капуцин белоплечий. Все обезьяны принадлежали к 4 – 5 поколению родившихся в питомнике, содержались в вольерах и клетках с центральным отоплением и водоснабжением. Животные получали сбалансированный по всем питательным показателям гранулированный корм, овощи и фрукты.

От живых животных материалом служили мазки – соскобы из цервикального канала и уретры у самок и уретры у самцов, конъюнктивы глаз. Для серологических исследований кровь брали венепункцией, натошак. Образцы цельной крови инкубировали 1 час при температуре 37° С, затем центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин. Сыворотку переносили в отдельную пробирку и хранили при минус 20° С не более двух недель. От погибших животных материалом исследования служили соскобы из УГТ, задней стенке глотки, паренхиматозные органы.

В результате проведенного исследования по установлению роли хламидийных инфекций в спонтанной патологии обезьян был впервые применен комплекс методов лабораторной диа-

гностики хламидиозов, применяемых в клинической практике, для установления распространения хламидиозов *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* у низших обезьян (культуральный, молекулярно – генетический, цитологический, иммунологический).

Цитологический метод. Взятый материал из урогенитального тракта (УГТ), конъюнктивы, задней стенки глотки в виде мазков – соскобов, а также мазков – отпечатков органов от павших животных, наносили на обезжиренные предметные стекла, высушивали на воздухе и фиксировали не менее 15 – ти минут в 96° этиловом спирте для последующей окраски и микроскопии. Окраску мазков проводили по Романовскому – Гимзе и раствором Люголя, согласно общепринятой методике [5, 6].

Серологический метод. Выявление антител (АТ) IgM – АТ, IgA – АТ и IgG – АТ к *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* у обезьян проводилось на тест – системах производства НПО «Диагностические системы» (Н. Новгород). Постановку реакций проводили в соответствии с инструкциями по применению, прилагаемых производителем.

Культуральный метод. Соскобным материалом, полученным при взятии материала, инфицировали суточную культуру клеток McCoу, выращенную на покровных стеклах, помещенных в лунки 24 – луночных планшет [1]. Детекцию хламидий в культуре клеток проводили окрасками по Романовскому – Гимзе, или раствором Люголя, или мечеными моноклональными антителами для выявления антигенов хламидий в реакции ПИФ и НИФ (тест – система CeLLabs, Австралия). Для повышения информативности культурального метода применяли разработанные способы детек-

ции и идентификации хламидий до вида и детекции плазмидных и бесплазмидных штаммов [8].

Молекулярно – генетические методы. В работе использовали набор для выделения ДНК из мазков и соскобов «ДНК – сорб – АМ» (НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора г. Москва). Для ПЦР амплификации ДНК *Ch. trachomatis* использовали коммерческий набор реагентов «АмплиСенс *Chlamydia trachomatis* – FL» (НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора г. Москва).

Для диагностики хламидийной инфекции был впервые применен разработанный способ мультиплексной детекции и идентификации *Chl. pneumoniae* и *Ch. trachomatis* при хламидиозе человека или обезьян. Для детекции штаммов *Ch. trachomatis*, несущих плазмиду и свободных от нее, был впервые применен предложенный способ мультиплексной диагностики плазмидных и бесплазмидных штаммов [8].

Молекулярно – генетическое типирование штаммов *Ch. trachomatis* осуществляли общепринятым и новым разработанным способом [7, 18].

Анализ антибиотикорезистентности штаммов *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* проводили выявлением генов устойчивости к тетрациклам (*tet* – М и *tet* – О) и макролидам (*erm*) [13, 15].

Проведены филогенетический анализ 16S – 23S срединного рибосомального участка и домена I гена 23S *pPHK* и оценка эволюционного расхождения между последовательностями штаммов хламидий обезьян в сравнении с представителями порядка *Chlamydiales*, представленных в электронной базе данных NCBI GenBank в результате секвенирования [16].

Результаты

Установлено широкое распространение хламидийной инфекции в популяции низших приматов как при патологии УГТ, так и при патологии органов дыхания и органов зрения. Встречались единичные случаи поражения нервной системы (головной мозг) и желудочно – кишечного тракта (прямая кишка). Причем процент инфицированности обезьян не зависит от вида, пола и возраста животных, то есть, чувствительность к хламидиозам одинаковая. Восприимчивы как детеныши до года, так и взрослые особи, самцы и беременные самки (внутриутробное заражение плода). Основную долю инфицированных хламидиями составили животные репродуктивного возраста – 39,4% из общего числа обследованных приматов, и 18,2% – детенышей и новорожденных. В результате исследования было также установлено, что в популяции приматов при хламидийной патологии выявляется не только монохламидийная инфекция (при патологии УГТ и органов зрения – *Ch. trachomatis*, при патологии органов дыхания – *Chl. pneumoniae*), но и микст – инфекция, вызванная *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae*. В частности, это наблюдали при исследовании материала от павших животных (взрослых и детенышей) при пневмохламидиозе. Так, из 13 обследованных павших животных с патологией органов дыхания у 30,7% обезьян из тканей легких была выделена *Ch. trachomatis*, причем у 50% из них выделена *Ch. trachomatis* в комплексе с *Chl. pneumoniae*, а у 23% животных обнаружен монопневмохламидиоз, обусловленный видом *Chl. pneumoniae*. При патологии УГТ и других систем *Ch. trachomatis* была верифицирована в плаценте у 23%

самок при патологических родах, в предстательной железе, в прямой кишке и тканях головного мозга при менингите *Ch. trachomatis* выделена у 7,7% животных. Численность инфицированных новорожденных и детенышей обезьян из общего числа (49 обследованных) составило 36,7% особей с различной патологией – мертворождение – 28%, отек головного мозга – 5%, пневмония – 17%, пневмопатия – 17%, гипотрофия – 28%. У 44% детенышей присутствовала микст хламидийная инфекция, возбудители были обнаружены не только в патологичном органе (пневмония, пневмопатия – легкие), но и в других органах – печень, селезенка, почки. Вид *Chl. pneumoniae* регистрировался преимущественно при патологии органов дыхания, в то время как *Ch. trachomatis* являлся причиной гипотрофии и мертворождения. Обнаружение возбудителей хламидиозов при патологии различных органов свидетельствует о системном распространении инфекции клетками лимфоидной ткани из первичного очага поражения.

При обследовании приматов с выраженной клиникой течения хламидийной инфекции УГТ, что проявлялось у самок абортами, эндометритами, цервицитами, у самцов – уретритами, с заболеваниями органов зрения – конъюнктивитами и кератоконъюнктивитами, применяя комплекс лабораторных методов, установлен высокий процент выявляемости хламидий при применении культурального метода, ПЦР и ИФА (100%), умеренный при цитологическом методе исследования (75%). При обследовании животных, имеющих в анамнезе хронические заболевания УГТ (бесплодие, аборт, цервициты, уретриты), а также животных с хроническими заболеваниями органов дыхания без выраженных клинических

признаков процент выявляемости хламидий при применении культурального метода составил 29%, ПЦР – 58%, ИФА – 62%, цитологического метода – 0% [9].

Осуществление детекции и идентификации *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* при микст – инфекции у обезьян в культуре клеток мечеными моноклональными антителами было невозможным из – за перекрестных результатов взаимодействия антител, в том числе и методом ПЦР с использованием коммерческих тест – систем мультиплексной детекции хламидиозов, из – за отсутствия таковых. Поэтому был разработан способ видовой детекции и идентификации хламидиозов *Ch. trachomatis* и *Ch. pneumoniae* с помощью оригинальной мультиплексной ПЦР [11]. Ряд штаммов *Ch. trachomatis*, полученных от обезьян, не верифицировались коммерческой тест – системой «Ампли-Сенс *Chlamydia trachomatis* – FL» по причине направленности в данной системе праймеров к плазмидной ДНК возбудителя. А в результате постановки ПЦР с применением специфических универсальных праймеров на различные эпитопы ДНК возбудителя было установлено, что данные штаммы *Ch. trachomatis* являются бесплазмидными. В случае ложноположительных результатов, при использовании коммерческих систем, стало необходимым разработать способ диагностики методом ПЦР штаммов *Ch. trachomatis* как несущих плазмиду, так и бесплазмидных вариантов [10].

Используя разработанные способы, детектировано и изолировано от обезьян 26 штаммов *Ch. trachomatis* и 5 штаммов *Chl. pneumoniae*.

В результате исследования 21 штаммов *Ch. trachomatis*, полученных при патологии УГТ, органов зрения обезьян системой для верификации плазмид уста-

новлено наличие носительства криптической плазмиды у 10 (47,6%) штаммов. Остальные 11 (52,4%) штаммов были бесплазмидными [8]. При культивировании штаммов *Ch. trachomatis* в культуре клеток МсСоу были выявлены множественные внутриклеточные хламидийные включения у 11 (42,3%) из 26 штаммов. Кроме того, было показано, что у плазмидных вариантов *Ch. trachomatis* хламидийные включения имели более крупный вид, по сравнению с бесплазмидными вариантами, что обусловлено синтезом и накоплением гликогена в хламидийных включениях [1]. За счет применения способов видовой детекции и идентификации хламидиозов и верификации плазмидных и бесплазмидных штаммов предложенными оригинальными ПЦР – тест – системами удастся повысить до 100% диагностическую значимость культурального метода исследования на хламидиоз, и предотвратить возникновение ложноотрицательных и ложноположительных результатов при применении для детекции в культуре клеток различных методов окраски внутриклеточных хламидийных включений.

Определена принадлежность штаммов *Ch. trachomatis* к генотипам. По результатам исследования установили циркуляцию в популяции обезьян двух генотипов: генотипа Е (42,3%) и G (57,7%) [7]. Штаммы с генотипом Е, выделенные от обезьян, являлись свободными от криптической плазмиды, в то время как штаммы с генотипом G – носители плазмиды. У плазмидных штаммов уровень и накопление гликогена в хламидийных включениях был значительно выше, чем у бесплазмидных. Культивирование штамма генотипа Е в культуре клеток характеризовалось образованием множественных внутриклеточ-

ных хламидийных включений. Это свидетельствует об отсутствии у данного генотипа экспрессии гена *incA*, играющего роль в формировании мембраны хламидийных включений. Штаммы с генотипом Е были выделены от животных без проявления клинических признаков инфекции, но имеющих в анамнезе хронические заболевания УГТ, а штаммы с генотипом Г были получены от обезьян с выраженными клиническими признаками заболевания УГТ, что характеризует их различную вирулентность. Показано, что хламидии генотипа Г у обезьян обуславливают патологию органов зрения и органов дыхания, что не было характерно для генотипа Е, который встречался только при патологии УГТ.

Проведенный анализ антибиотикорезистентности у 26 штаммов *Ch. trachomatis* и у 5 штаммов *Chl. pneumoniae* с помощью ПЦР, с целью определения генов устойчивости к тетрациклинам (*tet-M* и *tet-O*) и макролидам (*erm*), выявил из 26 штаммов *Ch. trachomatis*, выделенных от обезьян, наличие *tet* – гена у 4 (15,4%). Три штамма с геном устойчивости относятся к генотипу Е и один к генотипу Г. Присутствие *erm* – гена у штаммов *Ch. trachomatis* выявлено не было. У штаммов *Chl. pneumoniae* детерминанты устойчивости к тетрациклинам и макролидам не зафиксированы [7].

Впервые установлено филогенетическое положение штаммов хламидий, полученных от обезьян, в семействе *Chlamydiaceae*, что эти штаммы хламидий действительно принадлежат к видам *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae*. По результатам сравнительного анализа родства, эволюционного расхождения нуклеотидных последовательностей 16S – 23S срединного рибосомального участка и домена I 23S рРНК и определения

филогенетического положения штаммов *Chl. pneumoniae* и *Ch. trachomatis*, выделенных от обезьян, впервые было установлено родство данных изолятов с подобными штаммами, выделенными от человека, а также, со штаммами, нуклеотидные последовательности которых представлены в электронной базе данных GenBank.

Гомология штамма *Chlamydophila pneumoniae*, выделенного от обезьян, с человеческими штаммами *Chlamydophila pneumoniae* составила 98 – 99%. Изучаемый бесплазмидный штамм *Chlamydia trachomatis*, генотипа Е, полностью идентичен известному *Chlamydia trachomatis* L2/434/BU (100% гомологии), плазмидный обезьяний штамм *Chlamydia trachomatis*, генотипа Г гомологичен как человеческим, так известным штаммам *Chlamydia trachomatis* из NCBI GenBank на 98 – 99%.

Результаты и их обсуждение

Изучение спонтанной хламидийной инфекции у обезьян представляет собой огромное практическое и теоретическое значение для инфекционной патологии человека, ввиду близкого родства приматов и человека. Были изучены проявления и течение хламидиоза у обезьян и показана возможность их верификации применяемыми методами лабораторной диагностики. Показано, чем более выраженная клиническая картина течения заболевания, тем чаще положительные результаты регистрировались при применении комбинации методов ИФА, ПЦР, культурального и цитологического. При хронизации процесса положительный результат дает ПЦР и ИФА, либо только ИФА. При различных формах течения инфекции диагностическая значимость

методов детекции хламидий определяется, прежде всего, свойством возбудителя пребывать как в активной фазе жизнедеятельности, так и в состоянии персистенции. Установлено системное поражение животных хламидийной инфекцией, в особенности павших детенышей и мертворожденных обезьян, как при монохламидиозе, так и при микстхламидиозе. Регистрировалась детекция возбудителей в различных системах органов культурным методом и методом ПЦР.

Применение разработанных систем верификации хламидий до вида, а также плазмидных и бесплазмидных вариантов *Ch. trachomatis* позволило повысить диагностическую значимость культурального метода диагностики, исключить ложноотрицательные результаты при применении коммерческих ПЦР тест – систем диагностики, проводя диагностику *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae*.

С целью характеристики инфекционного процесса установлена роль плазмиды у *Ch. trachomatis*, как фактора вирулентности. Интересен тот факт, что характеризуя распространенность штаммов *Ch. trachomatis*, выявлена в большем проценте случаев циркуляция в популяции обезьян бесплазмидных вариантов (52,4%), чем можно объяснить в ряде случаев асимптоматическое проявление хламидийной инфекции у приматов.

Определена принадлежность штаммов *Ch. trachomatis* к генотипам E (бесплазмидный) и G (плазмидосодержащий). Выявлена связь генотипических свойств штаммов хламидий с фенотипическими проявлениями при культивировании в культуре клеток. Штаммы различаются по способности аккумулировать гликоген в хламидийных включениях в культуре клеток (у плазмидных вариантов), а также по экспрессии гена *incA* на уровне белка.

В сопоставлении характеристик штаммов и клиники проявления хламидийной инфекции, вызванной штаммом конкретного генотипа, установлена зависимость между генотипом и клиническими проявлениями. Генотипические и фенотипические свойства штаммов обуславливают характер и тяжесть инфекционного процесса у обезьян при хламидийной патологии.

Отсутствие детерминант антибиотикорезистентности у хламидий от обезьян свидетельствует о перспективе использования данных групп препаратов для осуществления антибиотикотерапии, в связи с тем, что не проводилось лечение и не появилась устойчивость к данным препаратам. В результате чего, в перспективе обезьяны могут выступать как модель для апробации фармакологических препаратов при хламидийных инфекциях человека.

Филогенетический анализ выделенных от обезьян штаммов *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* позволил установить их место в семействе *Chlamydiaceae*. Выявлено близкое эволюционное расположение изученных оригинальных видов *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae*, циркулирующих в популяции низших обезьян, с аналогичными видами из электронной базы данных GenBank.

Впервые были показаны различия нуклеотидной последовательности 16S - 23S срединного рибосомального участка и домена I 23S *pPHK* плазмидосодержащих и бесплазмидных штаммов *Ch. trachomatis*, выделенных от обезьян, принадлежащих к разным группам генотипов.

Выводы

Изученная спонтанная хламидийная инфекция у обезьян, вызванная штамма-

ми хламидий, гомологичным человеческим, может выступать как модель для изучения хламидиоза человека. Приматы со спонтанной хламидийной инфекцией могут применяться в качестве модели для апробации фармакологических препаратов, необходимых при профилактике и лечении хламидийной патологии человека.

Предложенный комплекс модифицированных методов лабораторной диагностики хламидиоза позволяет ускорить и объективизировать верификацию возбудителя с установлением генотипических и фенотипических свойств, всесторонне оценивать выраженность инфекционного процесса и прогнозировать исход хламидийной инфекции у приматов.

Список литературы

1. **Гречишников О.Г., Слободенюк В.В., Алёшкин В.А., и др.** Фенотипическая характеристика штаммов хламидий, выделенных от человека и обезьян культуральным методом // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология, 2009. № 3, с. 36 – 45.

2. **Дмитриев Г.А.** Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций. М.: Медицинская книга, Н.Новгород: Издательство НГМА, 2003. с. 336.

3. **Козлова В.И., Пухнер А.Ф.** Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий / Руководство для врачей, издание 6 – е, обновленное и дополненное. М.:Триада – Х, 2003.С. 483,

4. **Лобзин Ю.В., Лященко Ю.И., Позняк А.Л.** Хламидийные инфекции. Руководство для врачей. СПб.: ООО «Изд – во Фолиант», 2003.С. 400,

5. **Метельская В.А., Алешкин В.А., Зверев В.В. и др.** Современные методы лабораторной диагностики хлами-

диозов // Журн. Микробиол, № 4, 2008.С. 111 – 117.

6. **Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М.** Краткое руководство по микроскопической диагностике инфекций, передаваемых половым путем. СПб.: Фолиант, 2004. С. 128,

7. **Слободенюк В.В., Караулов А.В., Алешкин В.А., и др.** Генотипирование и анализ антибиотикорезистентности штаммов *Chlamydia trachomatis*, выделенных от человека и обезьян // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология, 2009. № 4, с.74 – 81.

8. **Слободенюк В.В., Алёшкин В.А., Лапин Б.А., и др.** ПЦР – детекция и идентификация возбудителей хламидийных инфекций человека и обезьян // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология, 2009. № 3, с. 45 – 54.

9. **Слободенюк В.В., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. и др.** Сравнительная характеристика методов верификации *Chlamydia trachomatis* у человека и обезьян // Естественные науки, 2009. № 1 (26), с.65 – 71.

10. **Слободенюк В.В., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., и др.** Способ прогнозирования манифестной или стертой формы хламидийной инфекции человека или обезьян и набор для его осуществления // Пат. № 2385945 РФ МПК С 12 Q 1/68; заявитель и патентообладатель ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. – № 2008151548/13; заявл. 26.12.2008; зарег. во ФГУП «Роспатент» 10.04.2010. Опубликовано: 10.04.2010 Бюл. № 10.

11. **Слободенюк В.В., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., и др.** Способ диагностики хламидийной инфекции человека или обезьян и набор для его осуществления // Пат. № 2385946 РФ МПК С 12 Q 1/68; заявитель и патентообла-

датель ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. – № 2008151550/13; заявл. 26.12.2008; зарег. во ФГУП «Роспатент» 10.04.2010. Опубликовано: 10.04.2010 Бюл. № 10.

12. **Anttila T., Saikku P., Koskela P. et al.** Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for development of cervical squamous cell carcinoma // JAMA, 2001. Vol. 285, N. 1, P. 47 – 51.

13. **Brenciani A., Bacciaglia A., Vecchi M. et al.** Genetic Elements Carrying erm(B) in Streptococcus pyogenes and Association with tet(M) Tetracycline Resistance Gene // Antimicrob. Agents and chemotherapy, 2007. Vol. 51, N. 4, P. 1209 – 1216.

14. **Carlson J.H., Whitmire W.M., Crane D.D., Wicke L., Virtaneva K.** The Chlamydia trachomatis Plasmid Is a Transcriptional Regulator of Chromosomal Genes and a Virulence Factor // Infection and Immunity, 2008. Vol. 76, N. 6, P. 2273 – 2283.

15. **Dugan J., Rockey D.D., Jones L., Andersen A.A.** Tetracycline Resistance in Chlamydia suis Mediated by Genomic Islands Inserted into the Chlamydial inv – Like Gene // Antimicrob. Agents and chemotherapy, 2004. Vol. 48, N. 10, P. 3989 – 3995.

16. **Everett K. D., Andersen A. A.** The ribosomal intergenic spacer and domain I of the 23S rRNA gene are phylogenetic markers for Chlamydia spp. // Int. J. Syst. Bacteriol, 1997. Vol. 47, No. 2, P. 46 – 473.

17. **Gaydos C.A.** Chlamydia pneumonia and its proposed link to multiple sclerosis: To be or not to be? // Neurology, 2001. Vol. 56, P. 1126 – 1127.

18. **Koskela P., Anttila T., Bjorge T. et al.** Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer // Int. J. Cancer, 2000. Vol. 85, No. 1, P. 35 – 39.

19. **Mahony J. B., Kathy E. Luinstra, John W. Sellors and Max A. Chernesky,** Comparison of Plasmid – and Chromosome – Based Polymerase Chain Reaction Assays for Detecting Chlamydia trachomatis Nucleic Acids// Clin. Microb., 1993. Vol. 31, No. 7, P. 1753 – 1758.

20. **Morre S.A., Rozendaal L., van Valkengoed I.G. et al.** Urogenital Chlamydia trachomatis serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestations? // J. Clin. Microbiol, 2000. Vol. 38, No. 6, P. 2292 – 2296.

21. **Norton R., Schepetiuk S., Kok T.** Chlamydia pneumoniae with endocarditis // Lancet, 1995. Vol. 345, N. 8961, P. 1376 – 1377.

22. **Pannekoek Y., Spaargaren J., Ankie A.J. et al.** Interrelationship between Polymorphisms of incA, Fusogenic Properties of Chlamydia trachomatis Strains, and Clinical Manifestations in Patients in The Netherlands // Clin. Microbiol, 2005. Vol. 43, No. 5, P. 2441 – 2443.

23. **Stothard D.R., Williams J.A.** Identification of a Chlamydia trachomatis Serovar E Urogenital Isolate Which Lacks the Cryptic Plasmid // Infection and Immunity, 1998. Vol. 66, No. 12, P. 6010 – 6013.

24. **Suchland R.J., Rockey D.D., Weeks S.K. et al.** Development of Secondary Inclusions in Cells Infected by Chlamydia trachomatis // Infection and Immunity, 2005. Vol. 73, No. 7, P. 3954 – 3962.

25. **Suchland R.J., Rockey D.D., Bannantine J.P., Stamm W.E.** Isolates of Chlamydia trachomatis Lack IncA, a Protein Localized to the Inclusion Membrane // Infection and Immunity, 2000. Vol. 68, No. 1, P. 360 – 367.

26. *Wesley C. Van Voorhis, Lynn K. Barrett et al.* Repeated Chlamydia trachomatis Infection of Macaca nemestrina Fallopian Tubes Produces a Th1 – Like Cytokine Response Associated with Fibrosis and Scarring// *Infection and Immunity*, 1997. Vol. 65, No. 6, P. 2175 – 2182.

27. *Zhongyu Li, Ding Chen, Youmin Zhong et al.* The Chlamydial Plasmid – Encoded Protein pgp3 Is Secreted into the Cytosol of Chlamydia – Infected Cells // *Infection and Immunity*, 2008. Vol. 76, No. 8, P. 3415 – 3428.

Spontaneous chlamydiosis in monkeys as a model of Chlamidia infection

**V.V.Slobodenyuk, N.N.Karkishchenko, S.S.Afanasyev, B.A.Lapin,
V.A.Aleshkin, A.V.Karaulov, Yu.V.Nesvizhsky, S.Yu.Pchelincev,
E.K.Dzhikidze, M.S.Afanasyev, E.A.Voropaeva**

The course and clinical picture of chlamidia infection in monkeys were described for the first time. Application of worked out test systems for species Chlamidia verification, as well as plasmid and plasmid – free strains of Ch. trachomatis allowed to increase the diagnostic value of cultural method. Role of plasmid in Ch. trachomatis as the virulence factor was revealed. Presence of plasmid – free variants of Ch. trachomatis was established in 52,4% of cases. Belonging of Ch. trachomatis strains to E (plasmid – free) and G (plasmid) genotypes was determined. The strains differ in ability to accumulate glycogen in chlamidia inclusions in cell culture (only plasmid strains) as well as in expression of incA gene. Genotypic and phenotypic properties of the strains determine character and severity of infectious process. The proposed modified cultural and molecular – genetic methods for verification make revelation of genotypic and phenotypic properties of chlamidia strains more objective, provide an opportunity for assessment of infection process severity and prognosis of outcome. Genetic relationship between the strains isolated in monkeys and humans was determined. Primates with spontaneous chlamidia infection can be used as a model for testing of pharmacological medications.

Key words: chlamydia, genotype, strains, model, monkeys, chlamydiosis.