

**АРШБА ИЛОНА МУРМАНОВНА**

**РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ  
ИНФЕКЦИЙ У ОБЕЗЬЯН И ИХ РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ  
БЕРЕМЕННОСТИ И РОДОВ**

03.00.07.- Микробиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук

Сочи -2008

Работа выполнена в Государственном Учреждении Научно-исследовательском институте медицинской приматологии РАМН, г. Сочи.

**Научный руководитель:**

Доктор медицинских наук, профессор Джикидзе Этери Капитоновна

**Официальные оппоненты:**

Доктор медицинских наук, профессор Митрохин Сергей Дмитриевич

Доктор биологических наук Осипова Ирина Григорьевна

**Ведущая организация:** Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российский университет дружбы народов

Защита состоится « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2008 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.046.01 при Федеральном государственном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского».

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2008 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Комбарова С.Ю.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Проблема урогенитальных инфекций человека, их связь с патологией беременности и родов - одна из актуальных задач современной медицины. В настоящее время известно более 20 инфекционных агентов, относящихся к разным классам и таксономическим группам микроорганизмов (бактерии, вирусы, простейшие), вызывающих заболевания, передающиеся половым путем (ЗППП). В последние годы резко возрос интерес к изучению роли хламидий, микоплазм и уреоплазм в этиологии воспалительных заболеваний урогенитального тракта человека [Арестова И.М. с соавт., 2000; Лобзин Ю.В. с соавт., 2003; Domeiko M., Hallen A. et al., 2002; Razin S. et al., 1998; Yoshida Takashi et al., 2002]. Они получили повсеместное распространение и являются серьезной угрозой для репродуктивного здоровья населения, вызывая у 25% инфицированных бесплодие, разнообразные виды патологии беременности и родов (ранние аборты, мертворождения, эктопическую беременность, патологию плода и новорожденных) [Арестова И.М. с соавт., 2000; Малкова Е.М. с соавт., 2005; Abele-Horn M., Wolff Ch. et. al., 1997; Alfa M.J., Embree J.E., 1995; Maher C.F., Haran M.V., 1994]. В настоящее время доказано, что генитальные инфекции проявляются не только местной воспалительной реакцией, но и сопровождаются иммунологическими, морфологическими, ферментативными и гормональными сдвигами, приводят к нарушению важнейших защитных барьеров половой системы, изменениям специфических функций организма [Арестова И.М. с соавт., 2000; Афанасьев С.С., Онищенко Г.Г., Алешкин В.А. с соавт., 2005].

Всемирная Организация здравоохранения уделяет большое внимание борьбе с ЗППП, выделяет большие средства на изучение их этиологии, патогенеза и эпидемиологии, а также на разработку методов ранней

---

Подписано в печать 12.05.07 г. Формат 60x84/16.  
Тираж 100 экз.  
Заказ 112

Отпечатано в службе множительной техники ГУ НИИ МП РАМН  
354376, Сочи-Адлер, Весёлое-1

диагностики, эффективной терапии и специфической профилактики этих инфекций [ВОЗ, 2002].

В этой связи особенно актуально получение адекватных моделей на лабораторных животных в целях дальнейшего использования модельных систем для решения кардинальных проблем борьбы с заболеваниями урогенитального тракта (УГТ) – оценки различных методов лечения и профилактики.

Обезьяны, ближайшие эволюционные родственники человека и составляющие наряду с человеком единый отряд приматов, с давних пор используются для экспериментального изучения инфекционных заболеваний антропонозного и зоонозного происхождения [Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Крылова Р.И., Стасилевич З.К., Яковлева Л.А., 2004]. Следует указать, что многие спонтанные болезни обезьян бактериального, вирусного и паразитарного происхождения являются аналогами соответствующих заболеваний человека как по клинико-морфологическим проявлениям, так и по характеру этиологических агентов [Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Фридман Э.П., 1987]. У этих животных при содержании и разведении в условиях неволи довольно высока частота патологии беременности и родов (ранние аборт, мертворождения), а также послеродовые воспалительные осложнения.

В литературе сведения об естественной инфекции УГТ обезьян, вызванной хламидиями, ограничиваются исследованиями в НИИ МП РАМН, которые начаты относительно недавно [Кебу Т.И., Джикидзе Э.К., с соавт., 2005]. Есть ряд наблюдений о спонтанном инфицировании микоплазмами и уреоплазмами верхних дыхательных путей и урогенитального тракта обезьян [Марантиди А.Н., 1982; Kochimizu K. et al., 1975, 1977; Madden D.L., Hildebrandt R.J. et al., 1970]. Имеются сообщения о попытках экспериментального воспроизведения урогенитальных инфекций указанной этиологии у обезьян путем их заражения инфекционными агентами, выделен-

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

НИИ МП РАМН – государственное учреждение научно-исследовательский институт медицинской приматологии Российской академии медицинских наук  
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота  
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт  
ЗППП – заболевания передающиеся половым путем  
ИФА – иммуноферментный анализ  
ПИФ – прямая иммунофлюоресценция  
ПЦР – полимеразная цепная реакция  
РАГА – реакция агрегатгемагглютинации  
РНГА – реакция непрямой гемагглютинации  
РПГА – реакция пассивной гемагглютинации  
УГИ – урогенитальные инфекции  
УГТ – урогенитальный тракт  
Ig G - иммуноглобулины класса G  
Ig M- иммуноглобулины класса M  
L-формы – бесстеночные формы бактерий, в частности микоплазмы

эффективности новых методов терапии, новых вакцин и иммунобиологических препаратов.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Аршба И.М., Кебу Т.И. Естественная инфекция возбудителями ИППП у обезьян в условиях неволи. // Материалы всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье». Суздаль, 2005.-С. 131-132.
2. Аршба И.М., Джикидзе Э.К., Кебу Т.И., Чикобава М.Г. Инфицированность обезьян некоторыми возбудителями, передающимися половым путем и их роль в патологии беременности и родов.// Материалы всероссийской научной конференции «Перспективные направления использования лабораторных приматов в медико-биологических исследованиях». Сочи-Адлер, 2006. – С. 107-112.
3. Кебу Т.И., Джикидзе Э.К., Чикобава М.Г., Аршба И.М. Спонтанная урогенитальная инфекция у обезьян рода макак.// Журн микробиол., 2006, №7. – С. 91-94.
4. Аршба И.М. Роль возбудителей ЗППП в патологии новорожденных обезьян. //Материалы всероссийской V научно-практической конференции молодых ученых и студентов юга России «Медицинская наука и здравоохранение». Анапа, 2007, - С. 8-10.
5. Аршба И.М., Джикидзе Э.К. Роль возбудителей заболеваний, передающихся половым путем в урогенитальной патологии обезьян.// Материалы международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии в опытах на обезьянах». Сочи-Адлер, 2007. – С. 141-148.
6. Аршба И.М., Джикидзе Э.К., Раковская И.В., Горина Л.Г., Гончарова С.А. Иммунологические показатели инфицированности обезьян «урогенитальными микоплазмами». // Журн микробиол., 2007, №5 . – С. 87-90.

ными у людей с воспалительными заболеваниями органов малого таза, уретритами, эпидидимитами [Козлова В.И., Пухнер А.Ф., 2003; Марантиди А.Н., 1982; Прозоровский С.В., Раковская И.В., Вульфович Ю.В., 1995; Kochimizu K., Magaribuchi T. et al., 1981].

Систематических, целенаправленных исследований для выяснения естественной (вне экспериментального воздействия) инфицированности возбудителями урогенитальных инфекций (УГИ) и распространения их среди обезьян различных видов практически нет, равно как нет сведений о возможной роли хламидий, микоплазм и уреоплазм в патологии беременности и родов, а также в развитии бесплодия.

### Цель настоящего исследования

Определение естественного распространения возбудителей УГИ (*C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum*) у низших обезьян разных видов и выяснение роли этих микроорганизмов в патологии беременности и родов.

### Задачи исследования

1. Изучить частоту распространения *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum* у взрослых здоровых обезьян разных видов и выяснить связь этого фактора с возрастом животных.
2. Определить распространенность *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum* у клинически здоровых обезьян, страдающих бесплодием.
3. Изучить частоту распространения *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum* у обезьян при патологии беременности и родов и воспалительных заболеваниях УГТ.
4. Определить инфицированность хламидиями, микоплазмами и уреоплазмами детенышей обезьян, рожденных от матерей – носителей *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum*.

### Научная новизна

Впервые получены уникальные данные по разносторонней характеристике носительства возбудителей УГИ у обезьян. Выявлено естественное распространение возбудителей УГИ (*C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum*) у низших африканских и азиатских обезьян, наиболее часто используемых в медико-биологических экспериментах.

Показано, что распространение возбудителей УГИ различно у обезьян разных видов и составляет не менее 28,3%, различаясь у клинически здоровых (49,5%) и больных особей (86,8%).

Показано, что инфицированность обезьян возбудителями УГИ не зависит от пола животных (50% - самцы, 49,3 - % самки). Наименьшая инфицированность выявлена у молодых особей обезьян, с возрастом отмечено нарастание инфицированности и увеличение частоты микст-форм.

Серологические исследования подтверждают частоту распространения возбудителей УГИ у обезьян.

Выявлена связь бесплодия обезьян с носительством возбудителей УГИ.

Показана высокая частота инфицированности детенышей обезьян, рожденных от матерей-носителей *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum*, установлены пути передачи УГИ и ее влияние на жизнеспособность потомства.

### Практическая значимость работы

Полученные данные об естественном распространении возбудителей УГИ (*C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum*) у обезьян разных видов и разных возрастов, независимо от пола, и связи этого фактора с патологией беременности и родов дают основание рекомендовать проведение обязательных бактериологических и серологических обследований обезьян при формировании производственного стада, а также при отборе животных

### **ВЫВОДЫ**

1. Обследование 346 африканских и азиатских обезьян на носительство возбудителей УГИ выявило широкое распространение *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum* у обезьян разных видов (павианы гамадрилы, павианы анубисы, зеленые мартышки, макаки яванские, макаки резусы, макаки лапундеры).
2. Высокая частота носительства возбудителей УГИ отмечена у обезьян рода макак (макаки яванские 64,8%, макаки лапундеры 60,0%, макаки резусы 47,8%), меньшая инфицированность выявлена у павианов гамадрилов (28,3%), что не зависело от пола животных (50,0% - самцы и 49,3% - самки).
3. Показано, что частота носительства возбудителей УГИ у клинически здоровых обезьян значительно ниже (49,5%), чем у обезьян с урогенитальной патологией (86,8%). У здоровых особей преобладает мононосительство возбудителей УГИ (27,8%), тогда как микст-носительство чаще свойственно особям с патологией УГТ (72,1%). С возрастом животных частота носительства *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum* и выявления микст-форм нарастает.
4. Выявлена этиологическая связь бесплодия клинически здоровых обезьян с носительством возбудителей УГИ (22,7%).
5. Серологические исследования подтверждают широкое распространение возбудителей УГИ как у обезьян с патологией УГТ, так и у клинически здоровых особей.
6. Обнаружена высокая частота инфицированности *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum* детенышей обезьян, рожденных от матерей – носителей этих микроорганизмов.
7. Обезьяны с естественным носительством возбудителей УГИ, могут быть рекомендованы в качестве модели для изучения вопросов патогенеза и форм течения УГИ у человека, а также для доклинического испытания

Заслуживает упоминания обнаружение *U.urealyticum* в легких детенышей двух обезьян, погибших от пневмонии в первую неделю после рождения, что может указывать на вероятность внутриутробного заражения.

Обнаружение *C.trachomatis* на конъюнктиве глаза в 2х случаях и *U.urealyticum* на задней стенке глотки в - одном, дает основание предполагать возможность заражения при прохождении через родовые пути. Эти детеныши погибли в сроки от недели до одного месяца после рождения.

При сопоставлении результатов исследования материалов от матерей (8 особей) и 8 их погибших детенышей было установлено совпадение возбудителей УГИ. При исследовании соскобов эпителиальных клеток из влагалища и полости матки матерей обнаружены *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum* методом ПЦР, преимущественно в виде микст-инфекции. В пробах от детенышей методами ПЦР и ПИФ были определены те же возбудители.

Обнаружение возбудителей УГИ в отпечатках паренхиматозных органов погибших новорожденных детенышей является объективным доказательством внутриутробного инфицирования. Эти данные подтверждают как антенатальный, так и интранатальный путь инфицирования плода, что соответствует наблюдениям у людей [Цинзерлинг А.В., Вуду Г.А., 1989; Малкова Е.М., Гавалов С.М. с соавт., 2005]. Таким образом, наши исследования показали, что детеныши, рожденные от инфицированных самок, относятся к группе обезьян с повышенным риском заражения возбудителями УГИ.

Результаты проведенных исследований обосновывают необходимость строгого контроля обезьян на носительство возбудителей УГИ как при формировании производственного стада, так и при использовании этих животных в медико-биологических экспериментах.

для моделирования патологии УГТ, обусловленной другими возбудителями УГИ.

#### **Апробация работы.**

Апробация диссертационной работы проведена на заседании Ученого Совета ГУ НИИ Медицинской Приматологии РАНН 25 июля 2007 г.

Результаты исследования доложены на всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье» (Суздаль, 19-22 мая 2005г.), всероссийской научной конференции «Перспективные направления использования лабораторных приматов в медико-биологических исследованиях» (Сочи-Адлер, 8-10 августа 2006г.), всероссийской V научно-практической конференции молодых ученых и студентов юга России «Медицинская наука и здравоохранение» (Анапа, 23-26 апреля 2007 г.). Основные положения работы представлены на международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии в опытах на обезьянах» (Сочи-Адлер, 19-22 сентября 2007 г.).

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Возбудители УГИ (*C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum*) широко распространены среди клинически здоровых обезьян разных видов. Бессимптомное носительство возбудителей УГИ в 22,7% случаев сопровождается бесплодием.
2. При патологии беременности и родов возрастает инфицированность УГТ обезьян возбудителями УГИ при одновременном нарастании частоты микст-форм.
3. Детеныши, рожденные от инфицированных матерей, относятся к группе обезьян с повышенным риском развития патологических процессов, вызываемых возбудителями УГИ.

### Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в том числе 2 в журналах, рекомендованных ВАК.

### Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 104 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 17 таблицами и 8 рисунками. Библиографический указатель включает 134 источника (79 – отечественных и 55 – иностранных авторов).

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

В настоящей работе все обследованные обезьяны, являются акклиматизированными и содержатся в открытых вольерах площадью 200-1000м<sup>2</sup> по 30 – 50 особей или в групповых клетках по 5-7 голов. Вольеры и клетки имеют зимние домики с центральным отоплением и водоснабжением. Обезьяны получают гранулированные корма, сбалансированные по всем ингредиентам, а также овощи и фрукты.

Объектом исследования служили 346 низших африканских (павианы гамадрилы, павианы анубисы, зеленые мартышки) и азиатских (макаки яванские, макаки резусы, макаки лапундеры) обезьян обоего пола и различного возраста (от нескольких дней и до 25 лет), наиболее часто используемые в экспериментальных медико-биологических исследованиях.

Из обследованных обезьян разных видов, были составлены следующие группы:

1) группа здоровых обезьян (без клинических симптомов урогенитальной патологии) разных видов распределена по полу;

Как видно из табл.8, число инфицированных возбудителями УГИ при пневмопатии составило 53,8%, при гипотрофии 50%, у мертворожденных - 35,2%.

Таблица 8

### Инфицированность детенышей обезьян возбудителями УГИ при различных патологических состояниях

Виды патологии	Кол-во детенышей	Число инфицированных детенышей	
		абс.	%
мертворождение	17	6	35,2
пневмопатия	26	14	53,8
пневмония	2	2	100
гипотрофия	4	2	50
травмы	4	2	50
патология ЖКТ	2	0	0
Всего	55	26	47,2

У 6 из 17 мертворожденных обезьян разных видов методом иммунофлюоресценции практически во всех паренхиматозных органах определяли наличие возбудителей УГИ (*C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum*), что свидетельствует о генерализации инфекционного процесса. На основании этих данных мы предполагаем, что мертворождения связаны с внутриутробным инфицированием плода. Возбудители УГИ регистрировались как в виде моноинфекции, обусловленной *C.trachomatis*, так и смешанной, обусловленной *M.hominis* и *U.urealyticum*.

В группе погибших от пневмопатии так же как и у мертворожденных, мы наблюдали диссеминацию возбудителей УГИ в паренхиматозные органы (легкие, почки, печень, селезенку).

носителей, так и у обезьян с патологией урогенитального тракта. Серологические исследования подтверждают высокую степень инфицированности УГТ обезьян хламидиями.

#### Этиологическая роль возбудителей УГИ в неонатальной патологии обезьян.

Для выяснения этиологической связи возбудителей УГИ с патологией новорожденных были обследованы детеныши разных видов обезьян, рожденные от инфицированных и здоровых самок. Всего обследовано 55 детенышей, в том числе 17 мертворожденных и 38 погибших в течение 1 месяца жизни после рождения. К таковым относятся: 21 макаков резус, 13 макаков яванских, 2 зеленые маргышки, 1 макак лапундер, 15 павианов гамадрилов, 3 павиана анубиса.

Образцами для исследования являлись кровь из сердца, мазки из конъюнктивы глаз и задней стенки глотки (60 образцов), а также отпечатки органов (легкое, печень, селезенка, почка - 68 образцов), и того от 55 обезьян исследовано 128 проб материала. В 60 образцах, исследованных методом ПЦР, в 18,3 % случаев обнаружены возбудители УГИ. Из 68 образцов отпечатков, исследованных методом прямой иммунофлюоресценции, в 52 случаях (76,4%) были определены возбудители УГИ, в том числе *M.hominis* в 30,8% случаев, *U.urealyticum* в 27,9% и *C.trachomatis* в 17,6%.

По данным патоморфологического исследования, из 38 детенышей, погибших в течение первого месяца жизни, 28 погибли от пневмопатий и пневмоний, 4 - с признаками гипотрофии, 4 - вследствие травм, 2 - при патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Из 55 исследованных детенышей у 26 обнаружены возбудители УГИ (*C.trachomatis*, *M.hominis* и *U.urealyticum*), что составило 47,2% (табл.8).

2) группа больных и погибших самок с патологией беременности и родов (аборты, патологические роды, мертворождения);

3) группа погибших детенышей с различной патологией (пневмопатия, пневмония, гипотрофия) (табл.1).

По заключению клинико-ветеринарного отдела с диагностической лабораторией к здоровым обезьянам (без клинических симптомов урогенитальной патологии) были отнесены активные животные, хорошо поедающие предлагаемую пищу, с блестящим шерстным покровом, розовыми видимыми слизистыми, с нормальными показателями функций сердечно-сосудистой, дыхательной систем и желудочно-кишечного тракта.

Таблица 1

Группы обследованных обезьян

Виды обезьян	Общее кол-во	Здоровые		С патологией беременности и родов		Погибшие детеныши
		♀	♂	Больные	Погибшие	
Макаки резусы	122	53	18	22	8	21
Макаки яванские	87	33	4	27	10	13
Макаки лапундеры	35	25	-	7	2	1
Зеленые маргышки	16	9	5	-	-	2
Павианы гамадрилы	83	40	13	9	6	15
Павианы анубисы	3	-	-	-	-	3
Всего	346	160	40	65	26	55

Материалом для исследования служили соскобы из уретры самцов, соскобы эпителиальных клеток влагалища здоровых самок и самок с урогенитальной патологией, а также соскобы, взятые из цервикального отдела и полости матки погибших самок. У погибших детенышей исследовали соскобы из конъюнктивы глаза, задней стенки глотки и паренхиматозные органы (легкое, печень, селезенка, почка). В ряде случаев для серологического исследования использовали сыворотки крови здоровых и больных обезьян.

При осмотре и взятии материала для исследования у самцов и самок с патологией беременности и родов использовали транквилизаторы (калипсол, кетамин).

При выполнении исследования руководствовались Правилами гуманного обращения с лабораторными животными (2003 г).

## МЕТОДЫ

**Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР).** Для подготовки и проведения метода ПЦР использовали коммерческие наборы производства НПФ «Литех» и «Биоком» (г. Москва), гарантирующие высокую диагностическую эффективность, особенно при персистентных инфекциях. Данная реакция состоит из трех этапов: экстракции ДНК из исследуемого материала, постановки ПЦР – амплификация участков ДНК и электрофоретический анализ продуктов ПЦР, которые проводили строго по указанному протоколу, с обязательным набором контрольных образцов.

**Методом прямой иммунофлюоресценции (ПИФ)** проводили прямую идентификацию антигенов хламидий и микоплазм, с помощью тест-систем ХлаМоноСкрин, МикогомоФлюоСкрин и УреагениФлюоСкрин, выпускаемых в Москве ЗАО «Ниармедик плюс» при институте им. Н.Ф. Гамалеи, по прилагаемой инструкции. Данная реакция флюоресцирующими

Показано, что антитела классов Ig G и Ig M чаще обнаруживали у больных, чем у клинически здоровых самок. У 10 из 13 больных самок выявлялись одновременно антитела классов Ig G и Ig M к *U.urealyticum*.

На предмет обнаружения общих специфических хламидийных антител были исследованы сыворотки крови 24 обезьян (17 самок и 7 самцов). 12 обезьян были здоровыми и 12 – с патологией беременности и родов (аборт, патологические роды, внутриутробная гибель плода). Антитела к хламидиям определяли в РНГА (табл 7). В 12 из 24 проб сывороток (50%) антитела были обнаружены в диагностических титрах (1:80 – 1:160). Полученные данные, в зависимости от клинического состояния обезьян, показали, что частота обнаружения антител у клинически здоровых животных несколько ниже, чем у обезьян с патологией беременности и родов - 41,6% и 58,3% соответственно.

Таблица 7

**Выявление специфических хламидийных антител в сыворотке крови здоровых и больных обезьян**

Группы обезьян	Количество обезьян с обнаружением антител	
	абс.	%
Здоровые (n=12)	5	41,6±2,1
Больные (n=12)	7	58,3±1,4
Всего (n=24)	12	50±1,02

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о частоте распространения представителей класса *Mollicutes* (*M.hominis*, *U.urealyticum*) среди обезьян, что подтверждается обнаружением специфических антител и антигенов в сыворотке крови, как у клинически здоровых (бессимптомных)

Таблица 5

Данные серологического обследования обезьян (n=51) на наличие антигенов и антител к *M. hominis* и *U. urealyticum*

Выявлены	Методы исследования	Количество обезьян в сыворотке крови которых обнаружены			
		антитела к <i>M. hominis</i>		антитела к <i>U. urealyticum</i>	
		абс.	%	абс.	%
антитела	ИФА: Ig G	16	31,3±6,4	32	62,7±6,4
	ИФА: Ig M	21	42,0±6,9	30	58,8±6,8
	РПГА	8	15,6±5,0	8	15,6±5,0
антигены	РАГА	16	33,3±6,6	22	43,1±6,8

Из всех серологически обследованных самок (41 обезьяна) у 13 в анамнезе были спонтанные аборт, мертворождения, патологические роды и др. Остальные 28 обезьян были клинически здоровы. В табл. 6 представлены результаты их обследования.

Таблица 6

Обнаружение Ig G и Ig M антител в сыворотке крови здоровых и больных обезьян (самок) методом ИФА

Группы обезьян	Кол-во особей, имевших антитела к							
	<i>M. hominis</i>				<i>U. urealyticum</i>			
	Ig G		Ig M		Ig G		Ig M	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Здоровые (n=28)	6	21,5 ±7,6	12	42,8 ±9,2	14	50 ±9,4	11	35,7 ±8,6
Больные (n=13)	7	53,8 ±13,6	6	46,1 ±13,6	11	84,6 ±9,8	12	92,3 ±23,1

моноклональными антителами в люминесцентном микроскопе представляет собой высокочувствительный и специфический тест, отличается простотой и воспроизводимостью.

**Реакцию агрегат-гемагглютинации (РАГА)** разработанную лабораторией микоплазм и L-форм бактерий при институте им. Н.Ф.Гамалеи, использовали для выявления антигенов микоплазм в сыворотке крови больного в концентрации 0,001-0,0001 мкг/мл (по белку). Особенность РАГА заключается в том, что для стабилизации эритроцитов и агрегированных белков иммунной сыворотки использовали глутаровый альдегид (ГЛА), при этом антитела вводятся в состав трехмерных белковых комплексов, вследствие чего часть активных центров антител отделяется от поверхности эритроцита и становится более доступной для детерминант антигена. Реакцию ставили в планшетах микротитратора «Такачи» с V-образными лунками. Учет полученных результатов производили по 4-х крестной системе. Титр при неспецифическом взаимодействии обычно не превышает 1:4. Минимальный диагностический титр 1:8.

**Реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА)**, для определения хламидийных антител у обезьян, проводили с помощью хламидийного эритроцитарного диагностикума производства ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ. В составе набора - ампулы с диагностикумом хламидийным, с диагностикумом контрольным и хламидийной антисывороткой. РНГА проводили микрометодом в планшетах для иммунологических реакций одноразового использования. Минимальный диагностический титр 1:80.

**Реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА)**, разработанную лабораторией микоплазм и L-форм бактерий при институте им. Н.Ф.Гамалеи, использовали для выявления специфических антител к микоплазмам. Для постановки реакции используют стабилизированные и активированные глутаровым альдегидом эритроциты человека, имеющего 0 (1) группу крови резус-отрицательную, сенсibilизированные растворимым антигеном

микоплазм, который представляет собой центрифугат ультразвукового дезинтегратора биомассы микоплазм ( $2 \times 10^8$  КОЕ/мл). Постановку реакции осуществляли в планшетах микротитратора «Такаччи». Учет полученных результатов производили по 4-х крестной системе. Диагностический титр – 1:32.

**Иммуноферментный анализ (ИФА)** проводили с помощью тест-системы ООО «Ниармедик плюс» (г. Москва) для выявления иммуноглобулинов IgG и IgM к антигенам микоплазм, которая основана на применении непрямого иммуноферментного анализа на твердой фазе с использованием пероксидазы хрена в качестве маркерного фермента. Подготовка реагентов, проведение иммуноферментного анализа и учет результатов производили строго по инструкции и регистрировали с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) на длине волны 492 нм.

При выполнении данного исследования было проведено 1127 анализов: 70 бактериологических, 642 молекулярно-генетических, 215 иммунофлюоресцентных, 200 серологических проб.

Статистическую обработку полученных данных проводили в соответствии с общепринятыми методами по Ашмарину И.П. и Воробьеву А.А. При статистическом анализе выполняли межгрупповые сравнения с использованием критериев Фишера. Результаты считали достоверными при  $p \leq 0,001$ .

специфических антител методом РПГА, а также антигенов данных микроорганизмов в пробах сыворотки крови здоровых обезьян и с патологией беременности и родов с помощью метода РАГА.

Как следует из табл. 5, Ig M антитела к *M.hominis* выявляли в большем проценте случаев, чем Ig G антитела (42,0% и 31,3% соответственно). При этом у 8 обезьян антитела этих двух классов были обнаружены одновременно. В ИФА титры Ig G антител колебались в пределах 1:400-1:3200, Ig M антител - 1:800-1:1600.

Частота обнаружения антител классов Ig G- и Ig M к *U.urealyticum* составила 62,7% и 58,5% соответственно. При этом в 22 случаях были выявлены антитела этих двух классов. Титры антител класса Ig M колебались в пределах от 1:800 до 1:1600, Ig G 1:200 – 1:3200. Антигены *U.urealyticum* были выявлены в РАГА в 43,1% случаев.

Следует отметить, что частота обнаружения антител к *U.urealyticum* достоверно выше ( $p \leq 0,01$ ), чем к *M.hominis*.

Высокая частота обнаружения антител класса Ig M, как к *M.hominis* так и к *U.urealyticum*, может свидетельствовать о недавно начавшемся инфекционном процессе у обезьян, течение которого в большей части случаев не имеет выраженных клинических симптомов.

В РПГА специфические антитела обнаруживали в 15,6% случаев, т.е. чувствительность этой реакции была значительно ниже чувствительности ИФА.

В РАГА антигены микоплазм были обнаружены у 16 животных, уреоплазм – у 22. Выявление антигенов (33,3% к *M.hominis* и 43,1 % *U.urealyticum*) является показателем широкого распространения возбудителей УГИ среди обезьян.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Распространение возбудителей урогенитальных инфекций у здоровых обезьян.

На первом этапе исследования была определена спонтанная инфицированность урогенитального тракта клинически здоровых обезьян возбудителями УГИ. Обследовано 200 здоровых обезьян (160 самок и 40 самцов) в возрасте от 3 до 24 лет, без клинических симптомов урогенитальной патологии. Из 200 здоровых обезьян методом ПЦР у 99 (49,5%) в соскобах из влагалища и уретры обнаружены 3 вида возбудителей инфекций, передающихся половым путем: *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum* (табл. 2).

Как следует из табл.2, у всех видов взрослых здоровых обезьян чаще обнаруживались *C.trachomatis* и *M.hominis* (44,5% и 20% соответственно) и реже *U.urealyticum* (7,5 %). Частота распространения возбудителей УГИ у обезьян была различной: у рода макаков составило от 47,8 до 64,8%, мартышек 78,5%, павианов 28,3%. Несмотря на столь высокий процент обнаружения возбудителей, клинические проявления заболеваний у этих животных не отмечены, что совпадает с аналогичными наблюдениями у людей.

Проведенными исследованиями выявлена достаточно высокая инфицированность клинически здоровых обезьян возбудителями УГИ.

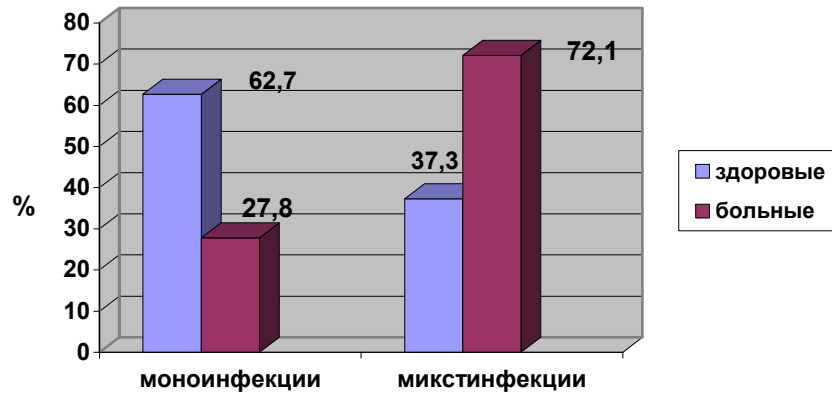


Рис. 3. Частота обнаружения возбудителей УГИ в виде моноинфекции и микст-инфекции среди здоровых и больных обезьян

### Результаты серологического обследования обезьян на наличие антигенов и антител к *C. trachomatis*, *M. hominis*, *U. urealyticum*.

Известно, что одним из достоверных показателей распространения тех или иных возбудителей УГИ является обнаружение специфических антител в сыворотке крови обследуемых. В настоящей работе представлены данные серологического обследования здоровых (без клинических признаков) и больных (с патологией беременности и родов) обезьян. В сыворотке крови разных видов обезьян определяли антигены и антитела к *M. hominis* и *U. urealyticum* (51 обезьяна) и *C. trachomatis* (24 обезьяны).

Для обнаружения антигенов и антител к возбудителям УГИ (*M.hominis* и *U.urealyticum*) использовали сыворотки 51 обезьяны двух видов (43 макаков резусов, 8 макаков яванских). В общее количество обследованных особей входило: самок - 41 (28 здоровых и 13 с патологией УГТ) и 10 самцов.

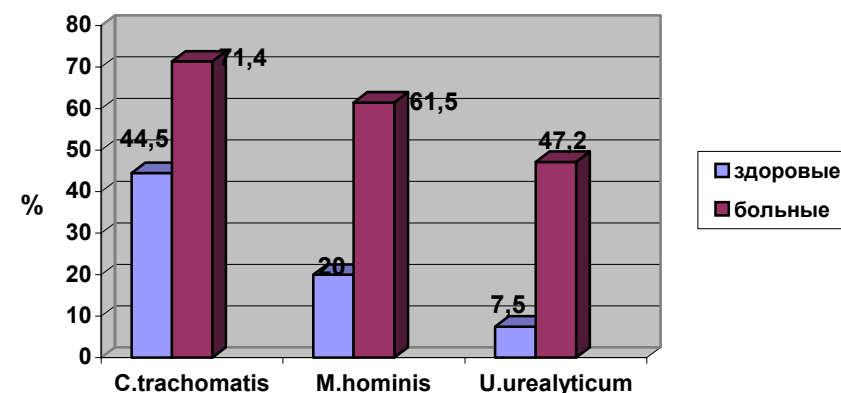
В табл. 5 приведены сведения об обнаружении антител классов Ig G- и Ig M- к *M.hominis* и *U.urealyticum* методом ИФА и общих

**Таблица 2**  
**Частота обнаружения возбудителей УГИ у здоровых обезьян разных видов методом ПЦР**

Кол-во и виды обезьян	Общее кол-во инфицированных обезьян		Число обезьян с обнаружением возбудителей УГИ по видам					
			<i>C.trachomatis</i>		<i>M.hominis</i>		<i>U.urealyticum</i>	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Макаки резусы (n=71)	34	47,8	31	44,0	16	22,5	5	7,0
Макаки яванские (n=37)	24	64,8	21	56,7	13	35,1	4	10,8
Макаки лапундеры (n=25)	15	60,0	12	48,0	9	36,0	1	4,0
Зеленые мартышки (n=14)	11	78,5	10	71,4	2	14,3	2	14,3
Павианы гамадрилы (n=53)	15	28,3	15	28,3	0	0	3	5,6
Всего (n=200)	99	49,5	89	44,5	40	20	15	7,5

Послеабортные и послеродовые воспалительные осложнения, как правило, были связаны с развитием эндометрита. Воспалительные осложнения чаще наблюдали у средней возрастной группы самок, реже - у молодых. Смешанные инфекции, вызванные *C.trachomatis* и *M.hominis*, *C.trachomatis* и *U.urealyticum*, *M.hominis* и *U.urealyticum*, были обнаружены у 56,2% исследованных особей. В 25,0% случаев регистрировалась моноинфекция, обусловленная *U.urealyticum*, *C.trachomatis* или *M.hominis*.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о более высокой частоте обнаружения возбудителей УГИ ( $p \leq 0,001$ ) у обезьян разными видами патологии беременности и родов по сравнению со здоровыми особями (рис.2).



**Рис.2. Частота обнаружения возбудителей УГИ среди здоровых и больных обезьян**

Частота ассоциаций возбудителей УГИ в виде микст-инфекции у больных обезьян с патологией беременности и родов оказалась достоверно выше ( $p \leq 0,001$ ), чем у здоровых (рис 3).

Частота обнаружения данных патогенов в зависимости от характера патологии была различной (табл.4). Наиболее часто возбудители УГИ обнаруживались при мертворождениях (93,7%) и реже при воспалительных заболеваниях (81,2%).

При абортах возбудители УГИ встречались как у молодых обезьян (4-7л), так и в средней возрастной группе (8-15лет). Частота одновременного носительства возбудителей УГИ в различных ассоциациях (58,0%) превалировала над моноинфекцией (29,0%). В виде микст-инфекции чаще встречались сочетания двух возбудителей: *C.trachomatis* и *M.hominis* или *C.trachomatis* и *U.urealyticum*. Моноинфекции, обусловленные *C.trachomatis*, *U.urealyticum* или *M.hominis*, регистрировались реже.

Патологические роды, в частности, неполное отделение плаценты, предлежание плаценты, 2 случая кесарева сечения, встречались, в основном, у молодых (4-7лет) особей. Так, из 18 молодых самок, большинство которых исследовано постмортально, у 7 в урогенитальном тракте обнаружены все три возбудителя, что составило 25%. В остальных случаях микст - инфекция (42,8%) обусловлена 2-мя видами возбудителей: *C.trachomatis* и *M.hominis*, *C.trachomatis* и *U.urealyticum* или *M.hominis* и *U.urealyticum*, то есть в различных сочетаниях. В 17,8% случаев регистрировалась моноинфекция, обусловленная либо *C.trachomatis*, либо *M.hominis*.

Высокого уровня достигает инфицированность обезьян при мертворождениях. Практически все исследуемые самки относятся к средней (10-13 лет) и старшей возрастной (17-22 г.) группе обезьян. Возбудители УГИ чаще встречались в различных ассоциациях (68,7%), а моноинфекция регистрировалась в 25,0% случаев. Интересно отметить, что у павианов гамадрилов ассоциация *M.hominis* и *U.urealyticum* встречалась чаще, чем у других видов. У большинства обезьян этой группы отмечены неоднократные мертворождения (2-6 раз) в течение жизни.

Обнаружение возбудителей УГИ у самок  
и самцов

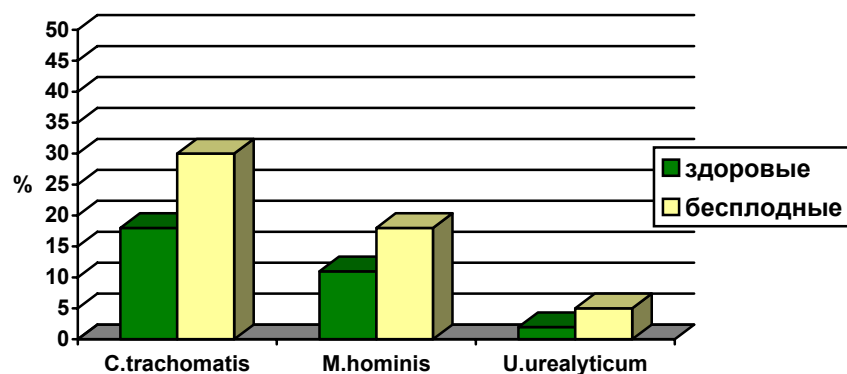
Распределе- ние обезьян по полу	Кол-во об- следованных обезьян	Количество инфицированных особей	
		абс.	%
♀ - самки	160	79	49,3
♂ - самцы	40	20	50
Всего	200	99	49,5

Частота обнаружения возбудителей УГИ у самцов и самок (табл.3) в среднем была на одинаковом уровне (50,0% - самцы и 49,3% - самки), что дает основание в равной степени использовать в экспериментах обезьян обоего пола.

Инфицированность здоровых обезьян обусловлена преимущественно одним из видов возбудителей УГИ (62,7% - моноинфекция), чаще всего это *C.trachomatis*, либо *M.hominis*. Однако в ряде случаев наблюдается микст-инфекция, представленная сочетаниями двух видов возбудителей УГИ (37,3%).

При анализе распространения возбудителей УГИ в зависимости от возраста обезьян установлено, что у особей 1-года жизни возбудители УГИ практически не обнаружены, у неполовозрелых животных (2-3г) степень зараженности несколько ниже (25%), чем у половозрелых (4-6 лет, молодые самки) (30%). С возрастом (8-15 лет и более) число инфицированных самок и самцов возрастает (до 52%), при этом постепенно увеличивается число животных, инфицированных ассоциациями возбудителей УГИ – *C.trachomatis* и *M.hominis* и *U.urealyticum*. У старых здоровых обезьян микст-инфекция встречается в 20% случаев.

По данным зоотехнических учетных карточек, в которых ведутся записи о беременности и родах у обезьян, 18 (22,7%) из 79 здоровых носителей (без клинических признаков патологии УГТ) оказались бесплодными, несмотря на то, что они находились с половозрелыми самцами в общих клетках или вольерах. Все 18 обезьян в возрасте от 6 до 24 лет принадлежали к роду макак. Представленные данные свидетельствуют о естественном инфицировании обезьян *C.trachomatis*, *M.hominis* и *U.urealyticum*, что является одной из причин нарушения детородной функции, так называемых здоровых носителей.



**Рис. 1. Инфицированность УГТ возбудителями УГИ здоровых и бесплодных самок**

При сравнении групп половозрелых самок с нормальной детородной функцией и бесплодных самок было установлено, что *U.urealyticum* определяются в 2 раза, а *M.hominis* и *C.trachomatis* – в 1.5 раза чаще у страдающих бесплодием. Таким образом, у бесплодных инфицированность возбудителями УГИ выше, чем у самок с нормальной детородной функцией (рис.1).

### Инфицированность возбудителями УГИ у обезьян с патологией беременности и родов.

Следующим этапом исследования являлось обследование больных и погибших обезьян с патологией беременности и родов. У 79 самок из 91 обнаружены изучаемые нами возбудители УГИ, что составило 86,8% (табл.4).

При разных видах патологии у 91 особи возбудители УГИ обнаруживались с частотой: *C.trachomatis* - 71,4%, *M.hominis* - 61,5%, *U.urealyticum* - 47,2%. По сравнению со здоровыми животными в этих группах преобладала смешанная инфекция (72,1%), реже регистрировалась моноинфекция (27,8%).

**Таблица 4  
Обнаружение возбудителей УГИ у обезьян при разных видах патологии беременности и родов методом ПЦР**

Число обезьян с разными видами патологии	Кол-во инфицированных обезьян		Число обезьян с обнаружением возбудителей УГИ по видам					
			<i>C.trachomatis</i>		<i>M.hominis</i>		<i>U.urealyticum</i>	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Аборты (n=31)	28	90,3	25	80,6	19	61,2	12	38,7
Патологические роды (n=28)	23	82,1	21	75,0	19	67,8	15	53,5
Мертворождения (n=16)	15	93,7	10	62,5	10	62,5	9	56,2
Воспалительные осложнения (n=16)	13	81,2	9	56,2	8	50,0	7	43,7
Всего (n=91)	79	86,8	65	71,4	56	61,5	43	47,2