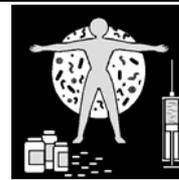


# ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ



УДК 616.9

Е.И.Архипова

## АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ, У НАСЕЛЕНИЯ НОВГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

*Институт медицинского образования НовГУ*

The brief survey of the most common diagnostics techniques of urogenital infections has been given. The analysis of the results of sexually-transmitted infections causative agents and their antibodies detection made by the laboratories of a number of medical and prophylactic institutions has been presented. The necessity of prophylaxis rebuilding has been concluded.

### Введение

Арсенал методов лабораторной диагностики урогенитальных инфекций значительно расширился за последние два десятилетия [1-3]. По чувствительности, специфичности, возможности рутинного применения, стоимости реагентов и оборудования, квалификации персонала эти методы различаются достаточно существенно, и это важно учитывать при организации лабораторной диагностики урогенитальных инфекций в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ). Не менее важно также учитывать особенности биологии различных возбудителей и патогенез урогенитальных инфекций, поскольку это определяет оптимальный подход к выбору методов специфической диагностики.

Цитоморфологический метод этиологической диагностики урогенитальных инфекций на сегодняшний день считается наиболее экономичным. Результативность его применения зависит в первую очередь от квалификации и опытности врача-лаборанта. Чувствительность и специфичность цитоморфологического метода по данным различных авторов составляет от 30 до 60% [4-5]. Ценность же данного метода заключается в его одномоментной совокупной информативности в отношении как этиологического агента инфекции (хламидии, наличие сопутствующей бактериальной микрофлоры, дрожжеподобные грибы, трихомонады, вирусы и т. п.), так и реактивных изменений пораженных тканей (нейтрофильно-гистиоцитарно-макрофагальной реакции, лимфоидной инфильтрации, дистрофических изменений клеток и т.п.).

Культуральный метод — выделение и идентификация возбудителей инфекционных заболеваний *in vitro* — широко применяется для диагностики бактериальных инфекций, но не имеет широкого применения в лечебных учреждениях, особенно в условиях районных больниц для выявления хламидий и вирусов. Для выделения этих возбудителей необходимы живые культуры клеток, а такие исследования могут проводиться лишь высокоспециализированными лабораториями. Тем не менее, культуральный метод является до настоящего времени «золотым» стандартом в оценке диагностической ценности других методов [6]. Выделение патогенов в культуре значительно расширяет

возможности лабораторной диагностики: позволяет дифференцировать жизнеспособных возбудителей от погибших в результате лечения, определять чувствительность инфекционных агентов к лекарственным препаратам. Эффективность применения культурального метода в диагностике инфекционных заболеваний зависит от правильности взятия материала и качества питательных сред и культур клеток.

В лабораториях многих ЛПУ для выявления трудно культивируемых патогенов используется иммунофлюоресцентный анализ (ИФлюорА). К его достоинствам относятся невысокая стоимость, высокая специфичность (90%) и чувствительность (55-75%), быстрая получения результатов (в пределах двух часов), а к недостаткам — зависимость результатов от качества забора материала, стадии заболевания и от квалификации врача-вирусолога.

Наиболее пригодным для рутинных массовых лабораторных исследований является иммуноферментный анализ (ИФА). Однако данный метод имеет ряд недостатков: 1) отсутствие антигенных диагностикумов для подавляющего большинства возбудителей урогенитальных инфекций, 2) относительно невысокая информативность определения IgG-антител при персистентных вирусных инфекциях, субклинических хламидиозах и микоплазмозах, 3) значительное количество неконтролируемых ложноположительных результатов (специфические контроли на ложноположительные результаты разработаны только для ИФА на вирусные гепатиты В и С).

В этиологической расшифровке и идентификации некоторых урогенитальных инфекций и особенно герпесвирусов большинство авторов отдает предпочтение молекулярно-биологическим методам, в частности полимеразной цепной реакции (ПЦР). Диагностические технологии, основанные на амплификации ДНК, считаются наиболее чувствительными (90-98%) и специфичными (90-100%), причем не требующими подтверждения с помощью других тестов [7]. Однако остаются неучтенными ошибки, связанные с возможным присутствием в пробе от большого ингибиторов ДНК-полимеразы или возможные нарушения условий забора и хранения материала [5]. Кроме того, дороговизна используемых реагентов и оборудования, а также необходимость квалифицированного персонала не

позволяют многим ЛПУ внедрить указанный метод в лабораторную диагностику урогенитальных инфекций.

Применение тех или иных из этих методов в ЛПУ Великого Новгорода и Новгородской области обусловлено различными обстоятельствами, включая традицию, наличие кадров, наличие оборудования, экономическое положение. Отчасти — и целесообразностью использования в конкретных условиях. Однако многие исследователи считают желательным использование нескольких методов диагностики, при обследовании пациентов с урогенитальными инфекциями [8,9].

Целью нашего исследования является анализ частоты выявления возбудителей инфекций, передающихся половым путем (ИППП), по данным результатов лабораторной диагностики некоторых районных и городских лечебно-профилактических учреждений Новгородской области.

### Материалы и методы исследования

В настоящей работе мы опираемся на результаты выявления инфекций различными методами исследования, применяемыми в лабораториях Боровичской центральной районной больницы, кожно-венерологического диспансера (КВД) Великого Новгорода и Новгородского центра по профилактике и борьбе со СПИДом и контролю за инфекционными заболеваниями «Хелпер».

Метод ИФА в этих учреждениях применяли для выявления антител к следующим возбудителям: *Trichomonas vaginalis* IgG, *S. trachomatis* IgA, *S. trachomatis* IgG, *M. hominis* IgG, *U. urealyticum* IgG, *Treponema pallidum* IgG, *Candida albicans* IgG, HSV type 1,2 IgG. Использовали иммуноферментные тест-системы «Вектор-ВПГ-IgG/Igm-стрип» фирмы «Vector-Best» (Новосибирск) в соответствии с прилагаемыми рекомендациями на выявление HSV type 1,2 IgG. Для обнаружения антител к *Treponema pallidum* IgG использовали тест «Люис Скрин», разработанный ЗАО «Ниармедик» и АЗОТ «Диаклон» (Москва). Тест-система — лизатная. Антитела к *Trichomonas vaginalis* IgG, *S. trachomatis* IgA, *S. trachomatis* IgG, *M. hominis* IgG, *U. urealyticum* IgG, *Candida albicans* IgG выявляли в ИФА с использованием сыворотки крови для определения титра антител классов М, G, А в единицах оптической плотности. Применяли иммуноферментную тест-систему «Комби-Хлами-IgG/IgA-ДС-TR» фирмы «Vector-Best» (Новосибирск), тест-системы НПО «Диагностические системы» (Нижний Новгород) и фирмы «Эколаб» (Электрогорск Московской области) в соответствии с прилагаемыми рекомендациями. Результаты ИФА регистрировали с помощью фотометра АИФ-С (Витебск), оптическую плотность измеряли при длине волны 492 нм (при использовании ортофенилдиамина).

ИФлюорА проводили с использованием ответственных моноклональных антител к липидному антигену *Chlamydia trachomatis* (С.Trachomatis), разработанные в НИИ экспериментальной медицины им. Н.Ф.Гамалеи РАМН (Москва), учет результатов проводили с использованием люминесцентного микроскопа «ЛЮНАМ».

ПЦР плазмы крови проводили в пробирках 0,5 мл типа «Эппендорф» на амплификаторах «Герцик» («ДНК-технология», Москва). Из исследуемого материала предварительно выделяли ДНК сорбентным

методом на реактивах НПФ «Литех» (Москва). Исследование проводили с использованием оборудования «Биоком» (Москва), «Биосан» (Латвия) и «Roch» (Швейцария).

Культуральный метод применяли для выявления *M. hominis* и *U. urealyticum*, при этом использовали жидкие диагностические питательные среды (НПФ «Диагност-мед», Омск), в состав которых входит индикаторный краситель (бромтимоловый синий) и соответствующий субстрат ферментативной активности (мочевина для *U. urealyticum*, аргинин для *M. hominis*). После инкубации о росте микоплазм судили по изменению цвета РН среды, которое происходит за счет разложения субстрата ферментативной активности и накопления соответствующих продуктов метаболизма.

### Результаты и их обсуждение

Из представленных данных явствует, что при использовании культурального метода с каждым годом увеличивается частота выявления как уреоплазм, так и микоплазм. В абсолютных числах в 1999 г. было проведено исследований на микоплазмы 1356, получено 14,8% положительных результатов, а в 2004 г. из 4822 исследований получено 30,7% положительных результатов. На уреоплазмы в 1999 г. проведено 1261 исследование, возбудители выявлены в 27,1% из них, а в 2004 г. из 6 тыс. проведенных исследований — в 47,9%.

Увеличение частоты выявления возбудителей урогенитальных инфекций может быть отнесено как к улучшению качества диагностики, с одной стороны, так и к повышению инфицированности населения, с другой. Полученные данные близки к результатам других авторов [10], в соответствии с которыми культуральным методом возбудители уреоплазмоза обнаруживались в 40,1% случаях.

При исследовании с помощью ИФА отмечается значительное колебание частоты положительных реакций в 2002 г.\*: высокий показатель выявления антител классов IgA и IgG к уреоплазмам — 43,1% и очень низкий — к микоплазмам — 5,5% и изменение их частоты в последующие годы: в 2003 г. — 27,5% и 21,4%, в 2004 г. — 27,5% и 26,1% соответственно. Выявление антител IgG в 2004 г. к микроорганизмам *M. hominis* составило 6,1%, а к *U. urealyticum* — 4,2% из общего числа положительных результатов.

Число обследованных пациентов и число больных с выявленными антителами классов IgA и IgG к *S. trachomatis* по данным Новгородского центра «Хелпер» за 2000 — 2004 г.г. представлены в табл.1, из которой видно, что за период наблюдения отмечается тенденция к увеличению числа обследованных пациентов в 1,3 раза. Максимальный уровень обращаемости был зафиксирован в 2001 г. Наиболее низкая частота отмечена в 2002 г. Увеличение ее почти вдвое в следующем году может быть связано с введением постановления об обязательном обследовании всех беременных на ИППП (в том числе и хламидиоз). Из общего числа всех обследованных на хламидиоз в 2004 г. контингент беременных составил 3980 человек, из них антитела классов IgA и IgG к *S. trachomatis* выявлены у 914 беременных (2,6% и 20,4% соответственно).

\* До 2002 г. ИФА на микро-уреоплазменные возбудители в лаборатории КВД не проводился.

Таблица 1

Динамика частоты выявления антител класса IgA и IgG к *S. trachomatis*  
у обследованных пациентов

Год	Число обследованных	Число выявленных					
		Всего (IgA + IgG)		IgA		IgG	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
2000	4726	905	19,1	149	16,5	756	83,5
2001	7879	1103	13,99	165	14,9	938	85,1
2002	4593	498	10,8	81	16,3	417	83,7
2003	6088	988	16,2	466	47,2	522	52,8
2004	6145	1414	23,0	229	16,2	1185	83,8

Соотношение обращаемости мужчин и женщин составляет в среднем 1:7, случаев заболевания среди женщин в 20 раз больше, чем у мужчин (табл.2). Среди выявленных больных уровень IgA в сыворотке крови составлял в 2000 г. 16%, в 2001 г. — 15%, в 2002 г. — 16,2%, в 2003 г. — 47%, в 2004 г. — 55%.

Таблица 2

Распределение пациентов, обследованных в 2000 — 2004 гг. на хламидиоз по полу (в %)

	2000	2001	2002	2003	2004
Женщины:					
здоровые	64,8	71,28	77,43	76,54	75,6
больные	15,2	14,19	11,57	12,46	14,4
Мужчины:					
здоровые	17,14	12,46	9,84	10,23	9,4
больные	2,86	2,07	1,16	0,77	0,6

Нами проанализированы результаты лабораторных исследований КВД по выявлению грибов рода *Candida* за последние шесть лет. Было обследовано всего 36915 человек. С момента окончания официальной регистрации урогенитального кандидоза (1999 г.) процент выявления данного возбудителя при микроскопировании составил 1,52% при обследовании 4163 человек, а в 2004 г. из 6707 обследованных пациентов возбудитель выявлен уже у 13,9% человек. Основная часть положительных результатов принадлежала контингенту больных с клинически поставленным диагнозом урогенитального кандидоза, среди которых преобладали женщины (табл.3).

В генезе урогенитальных заболеваний инфекция, вызванная *S. albicans*, приобретает все возрастающую роль. Если у 80,9% больных урогенитальным кандидозом заболевание протекает как моноинфекция, то у 19,07% выявлены сопутствующие заболевания: хламидиоз (10,4% всех больных этой груп-

пы), гонорея (2,8%), микоплазмоз (23,3%), уреоплазмоз (43,3%), трихомониаз (12,7%), герпес генитальный (5,2%), гарднереллез (2%) и др. (0,3%). Таким образом, проблема грибковых заболеваний остается актуальной, что подтверждается повышением уровня заболеваемости и увеличением инфицирования *S. albicans* населения Новгородской области.

В Боровичской ЦРБ для выявления различных возбудителей ИППП у больных с поражением урогенитальной системы широко используется цитоморфологический метод с микроскопическим и морфоцитологическим исследованием для выявления этиологии и активности патологического процесса. Ценность этого метода состоит в том, что он позволяет одновременно в одном мазке обнаруживать несколько возбудителей, характер и степень иммуноморфологических изменений. Проведено 470 исследований мазков-соскобов и отпечатков со слизистых оболочек мочеполовой системы у пациентов и их половых партнеров, у 28,9% из них выявлены гарднереллы, у 24,1% — хламидии. Несколько реже обнаруживали кандиды (14,5%), вирусы герпеса (12,1%) и микоплазмы (7,2%). Результативность исследований в данном случае обусловлена качеством забора материала одним специалистом и учет результатов этим же специалистом или при его участии. Данный метод можно использовать и для скринингового исследования.

Результаты выявления ДНК возбудителей методом ПЦР представлена в табл.4, из которой видно, что маркеры ДНК *Gardnerella vaginalis* выявлены у большей части пациентов, что, вероятно, связано с перенесенными ранее ИППП, а также лечением их различными антибактериальными препаратами, и свидетельствует о дисбиозе гениталий. По данным других исследователей [11], гарднереллы выявляются у 50% сексуально активных женщин и у 90% женщин при бактериальных вагинозах.

Таблица 3

Частота выявляемости *S. albicans* методом микроскопии у мужчин и женщин с урогенитальным кандидозом в динамике (%)

1999		2000		2001		2002		2003		2004	
м	ж	м	ж	м	ж	м	ж	м	ж	м	ж
0,2	1,3	0,04	3,9	0,2	5,12	0,09	11,2	0,1	11,4	0,4	13,3

Таблица 4  
Частота выявления ДНК урогенитальных инфекций  
методом ПЦР за 2004 г.

Возбудители	Обследовано (абс.)	Выявлено	
		Абс.	%
<i>Trichomonas vaginalis</i>	806	63	7,8
<i>C. trachomatis</i>	1984	131	6,6
<i>Gardnerella vaginalis</i>	509	305	59,9
<i>M. hominis</i>	1692	201	11,9
<i>U. urealiticum</i>	980	108	11
<i>Ureaplasma parvum</i>	1040	298	28,7
<i>Candida albicans</i>	160	19	12
<i>H. simplex virus type 1,2</i>	632	30	4,7

Маркеры ДНК *M. hominis* и *U. urealiticum* выявлены с одинаковой почти частотой. В структуре заболеваний, передающихся половым путем, доминирующее значение имеет микоплазменная инфекция, вызываемая *U. urealiticum*. Выявление *Candida albicans* свидетельствует также о наличии дисбиоза в урогенитальной системе.

В лаборатории центральной районной больницы для выявления возбудителей урогенитальных инфекций у населения по обращаемости используется метод прямой иммунофлюоресценции, по данным которого у одной трети обследованных определяются антигены хламидий, мико- и уреоплазм.

Таким образом, проведенный анализ частоты выявления возбудителей ИППП по данным результатов лабораторной диагностики некоторых районных и городских лечебно-профилактических учреждений

свидетельствует о высоком инфицировании населения с тенденцией его роста в динамике. Это говорит о необходимости проведения профилактических мероприятий в восприимчивых контингентах, т.е. перераспределения профилактики с организованных коллективов на все население области, причем с акцентом на его неорганизованную часть.

1. Симещенко И.Е., Михайлов Н.В. // Мат. Рос. науч.-практ. конф. «Узловые вопросы борьбы с инфекцией». СПб., 2004. С.218.
2. Соколовский Е.В. Кожный зуд. Акне. Урогенитальная хламидийная инфекция. СПб, 1998. 128 с.
3. Carolyn M. // Clin. Microbiol. Rev. 1997 Jan. P.160-184.
4. Башмакова М.А., Савичева А.М. // Проблемы репродукции. 2000. №1. С.20-24.
5. Бойцов А.Г., Ластовка О.Н., Порин А.А. // Клиническая лабораторная диагностика. 2000. №2. С.37.
6. Делекторский В.В., Яшкова Г.Н., Мазурчук С.А., Галаутдинов Ш.Д. // Клиническая лабораторная диагностика. 1995. № 6. С.108-110.
7. Алимбарова Л.М., Гараев М.М. Лабораторные методы диагностики герпесвирусных инфекций // Актуальные проблемы герпесвирусных инфекций. М., 2004. С.8-25.
8. Баринский И.Ф., Шубладзе А.К., Каспаров А.А., Гребенюк В.Н. Герпес: этиология, диагностика, лечение. М.: Медицина, 1986. 272 с.
9. Ивановская Т.Е., Гусман Б.С. Заболевания, обусловленные вирусами герпеса // Пат. анатомия болезней плода и ребенка: Руководство для врачей / Под ред. Т.Е.Ивановской, Л.В.Леоновой. М., 1989. Т.2. С.266-271.
10. Симещенко И.Е., Михайлов Н.В., Огарков П.И., Белей А.В. // Мат. науч. конф. и VIII съезда итало-российского общества по инфекционным болезням. СПб., 2002. С.314-315.
11. Коршунов В.М., Володин Н.Н., Ефимов Б.А. и др. Микророзкология влагалища. Коррекция микрофлоры при вагинальных дисбактериозах. Учеб. пособие. М.: ВУНМЦ МЗ РФ, 1999. 80 с.