



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА РЕПРОДУКТИВНО ЗНАЧИМЫХ ИНФЕКЦИЙ: ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ РЕШЕНИЯ

А. М. Савичева (savaitcheva@mail.ru)

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург, Россия.

■ Статья посвящена основным вопросам микробиологической диагностики репродуктивно значимых инфекций. На основании многолетних исследований, проводимых в лаборатории микробиологии ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, и совместного российско-шведского проекта «Совершенствование качества диагностики и терапии инфекций, передаваемых половым путем (ИППП)», осуществляемого в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, предложен алгоритм микробиологического обследования пациентов при наличии уrogenитальных и трансплацентарных инфекций. При этом подчеркивается важность применения микроскопического исследования, выполняемого врачом на амбулаторном приеме с целью ранней диагностики и своевременного лечения ряда уrogenитальных инфекций

Введение

Демографическая ситуация в России до сих пор не улучшилась. В последних документах правительства Российской Федерации и Министерства здравоохранения и социального развития в качестве основной причины ухудшения репродуктивного здоровья населения приводится инфекционная заболеваемость, особенно заболеваемость уrogenитальными инфекциями. Одним из успешных путей сокращения заболеваемости является качественная и своевременная диагностика не только уrogenитальных инфекций, но и всех инфекций, влияющих на репродуктивное здоровье населения.

К репродуктивно значимым инфекциям относят уrogenитальные инфекции, наиболее часто это инфекции, передаваемые половым путем, а также трансплацентарные инфекции, имеющие значение исключительно для беременных женщин. Кроме того, любые инфекционные заболевания, перенесенные человеком, особенно в период становления репродуктивной функции, могут влиять и на репродуктивное здоровье.

Своевременная этиологическая диагностика репродуктивно значимых инфекций служит основанием для раннего начала этиотропной терапии, а также для информации пациентов

об особенностях распространения заболевания, последствиях для обоих половых партнеров, а при беременности — о возможном заболевании плода и новорожденного ребенка.

В диагностике инфекций репродуктивного тракта большая роль отводится микробиологическим исследованиям. От точности поставленного этиологического диагноза во многом зависит успех лечения этих инфекций. Микробиологические методы диагностики способствуют правильному установлению диагноза в том случае, если врач знает заболевание, которое собирается диагностировать, правильно собирает и направляет адекватный материал на исследование, знает состав нормальной микрофлоры уrogenиталий и знает, как оценить результаты исследований.

В течение десяти лет (1998–2007) в Ленинградской области и шести лет (2001–2007) в Санкт-Петербурге работает российско-шведский проект «Совершенствование качества диагностики и терапии инфекций, передаваемых половым путем (ИППП)». В проекте принимают участие Центр ВОЗ по ИППП при Уппсальском университете (Швеция) и Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН (Санкт-Петербург). Проект ведется под эгидой комитета по здравоохранению Ленинградской области и комитета по здравоохранению правительства Санкт-Петербурга.

В рамках проекта разработана методология разноуровневой диагностики репродуктивно значимых инфекций. На первом уровне врач на приеме оценивает состояние пациента, проводит осмотр и микроскопическое исследование отделяемого влагалища, цервикального канала и уретры у женщин и уретры у мужчин. Второй уровень предусматривает лабораторное исследование с целью уточнения диагноза и установления этиологического фактора инфекции.

Первый уровень очень важен как для врача, так и для пациента. При первом визите врач в присутствии пациента при помощи элементарных навыков в области микроскопического исследования оценивает состояние слизистой уrogenитального тракта и определяет стратегию ведения пациента (назначает лечение и, при

необходимости, направляет клинический материал в лабораторию для целенаправленного исследования с целью выявления определенных возбудителей).

Цель данной статьи: рассмотреть основные методы микробиологической диагностики репродуктивно значимых инфекций.

Материалы и методы

Для исследования на наличие возбудителей урогенитальных инфекций берут материал из уретры у мужчин, из влагалища, уретры, цервикального канала у женщин, первую порцию свободно выпущенной мочи, в основном, у мужчин. Для исследования на наличие трансплацентарных инфекций — исследуют венозную кровь на наличие специфических антител.

Основные методы исследования: микроскопические, культуральные (посевы), молекулярно-биологические (ПЦР и другие), серологические (ИФА).

Результаты

Нормальная микрофлора урогенитального тракта. Из огромного количества разнообразных микроорганизмов, которые находятся в урогенитальном тракте женщин и мужчин, очень редкие из них действительно вызывают заболевание. К патогенным микроорганизмам, при выявлении которых обязательно назначается этиотропная терапия, относят такие, как *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus ducrei*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, а также простейшее *Trichomonas vaginalis*. Существует большая группа условно патогенных микроорганизмов, которые могут вызывать заболевание при определенных условиях — это микоплазмы (*Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma fermentans*), уреаплазмы (*Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*), энтерококки, энтеробактерии, стафилококки, стрептококки, гарднереллы (*Gardnerella vaginalis*), дрожжеподобные грибы (*Candida spp.*). Эти же микроорганизмы могут входить в состав нормального физиологического микробиоценоза гениталий.

Микроскопические методы диагностики. Первым этапом диагностики инфекций репродуктивного тракта должна быть оценка микробиоценоза гениталий с определением количества лейкоцитов, эпителия, соотношения лейкоцитов и эпителия, слизи и морфотипа бактерий. Причем в этой части диагностики активное участие должен принимать клиницист, который берет материал для исследования и интерпретирует его как с точки зрения качества взятия, так и для

постановки предварительного (а в ряде случаев окончательного диагноза). Специально обученный врач на приеме при использовании метода прямой (Bed Side) микроскопии нативных и окрашенных мазков может оценить воспалительную реакцию, обнаружить «ключевые» клетки, мицелий дрожжеподобных грибов, выявить подвижные трихомонады [1,2, 3].

Оценка врачом воспалительной реакции на основании физикального осмотра и микроскопического исследования позволит правильно взять адекватный материал для исследования и направить его в лабораторию для уточнения диагноза.

Диагностика бактериального вагиноза, кандидоза, трихомоноза. Диагноз бактериального вагиноза устанавливают по критериям Амсея на основании клинической и микроскопической картины. При микроскопическом исследовании обращают внимание на большое количество слущенных клеток многослойного плоского эпителия с адгезированными на них бактериями («ключевые клетки») и небольшое количество лейкоцитов (соотношение лейкоцитов к клеткам эпителия < 1:1). Важно помнить, что в ассоциацию микроорганизмов, которые могут быть выделены при бактериальном вагинозе, входят гарднереллы, микоплазмы, уреаплазмы, вибрионы рода *Mobiluncus*, анаэробные кокки и анаэробные бактерии [6,8,12].

Урогенитальный кандидоз имеет характерную клиническую картину, а лабораторная диагностика (преимущественно микроскопическая) заключается в выявлении мицелия и/или почкующихся форм дрожжеподобных грибов.

Для диагностики трихомоноза используются микроскопические и культуральные методы исследования, т. к. подвижные формы трихомонад хорошо видны при исследовании нативных (влажных) препаратов [6,8,12].

Диагностика гонореи. Для диагностики гонореи на сегодняшний день недостаточно проведения микроскопического исследования материалов, полученных из цервикального канала или уретры женщин, с окраской их по Грамму, т. к. чувствительность этого метода лишь 30–50 %. У мужчин с клиническими проявлениями уретрита этот метод имеет высокую чувствительность и специфичность. Наши исследования показали, что в настоящее время требуется пересмотр перечня методов, рекомендованных для диагностики гонореи, особенно в плане скрининга этой инфекции. Кроме того, требуется улучшение качества питательных сред, используемых для культуральной диагностики гонореи [13].

Диагностика урогенитальной хламидийной инфекции. Для диагностики инфекции, вызванной *Chlamydia trachomatis*, используются

такие методы, как культуральный, иммунофлюоресцентный (ПИФ) и молекулярно-биологические методы (в частности, ПЦР), направленные на выделение возбудителя или выявление его антигенов, или ДНК/РНК.

Долгое время считалось, что метод культуры клеток (КК) для диагностики хламидийной инфекции является «золотым стандартом» по сравнению с иммунофлюоресцентным методом. На сегодняшний день метод культуры клеток остается по специфичности «золотым стандартом», уступая, однако, по чувствительности молекулярно-биологическим методам, по нашим данным, чувствительность культурального метода 40–60 %. Чтобы избежать спорных случаев, при которых метод культуры клеток дает отрицательный результат, а другой метод — положительный, многими авторами предлагается использовать еще один дополнительный метод — арбитражный. Результат считается положительным при положительном результате культурального метода или при положительном результате двух других методов [11, 12].

В настоящее время разрабатываются новые методы диагностики урогенитальной хламидийной инфекции такие как, ПЦР в реальном времени и NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) в реальном времени [5].

Выявление генитальных микоплазм. Для выявления генитальных микоплазм необходимо использовать культуральный метод или метод ПЦР в реальном времени, позволяющие определить количество микоплазм в исследуемом материале (для *Ureaplasma spp.* и *Mycoplasma hominis*). Следует подчеркнуть, что *Mycoplasma genitalium* выявляется исключительно молекулярно-биологическими методами (ПЦР, ПЦР в реальном времени). Концентрация микоплазм более 10^4 микробных тел в одном мл или грамме отделяемого может иметь диагностическое значение, особенно при наличии конкретного заболевания такого как, вульвовагинит, цервицит у женщин, уретрит у мужчин, в то время как более низкие концентрации не должны учитываться, поскольку в таких количествах микоплазмы (кроме патогенных видов) могут обнаруживаться у здоровых людей. Недопустимо использование методов прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) для выявления генитальных микоплазм, а также серологических методов выявления антител.

Выявление вируса папилломы человека (ВПЧ). В настоящее время дискутируются вопросы включения теста на ВПЧ в первичный скрининг рака шейки матки, т. к. первичный цитологический скрининг недооценивает тяжесть заболевания у 30 % женщин. В основе всех ре-

комендаций по применению теста на вирус папилломы человека в скрининге рака шейки матки лежит тот факт, что цервикальные поражения высокой степени и рак в отсутствие вируса не развиваются. Необходимое условие развития рака шейки матки — длительная персистенция вируса, высокая вирусная нагрузка определенного типа вируса. Для выявления ВПЧ и определения концентрации вируса используется исключительно ПЦР в реальном времени [4].

Диагностика трансплацентарных инфекций.

К возбудителям трансплацентарных инфекций относятся: *Listeria monocytogenes*, *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, а также вирусы (краснухи, цитомегалии, герпеса 1, 2 типов, герпеса 3 типа — *Varicella zoster*, кори, парвовирус В19 и др.). Следует отметить, что выявление возбудителей той или иной инфекции у беременной не всегда говорит о его передаче плоду. Так известно, что в 100 % плоду передаются листерии, в 50–70 % — хламидии, в 37 % — стрептококки группы В, в 30% — микоплазмы, в 50 % — вирус цитомегалии при первичной инфекции во время беременности [7, 10].

Для диагностики этих инфекций используются методы, описанные выше. Для диагностики таких инфекций, как токсоплазмоз, цитомегалия, краснуха используют определение антител разных классов в сыворотке крови матери. Для беременной важно выявление острой инфекции, впервые возникшей во время данной беременности. Поэтому при планировании беременности необходимо обследование на наличие только специфических IgG, свидетельствующих об иммунитете. При постановке беременной на учет в женской консультации, а также при контакте с этими инфекциями, следует провести исследование сыворотки крови на наличие IgG, IgG-авидность и IgM [9].

Заключение

Для диагностики репродуктивно значимых инфекций используются разные микробиологические методы. Важно для этой цели выбрать метод, отвечающий всем стандартам качества, высокочувствительный и высокоспецифичный. Параметры диагностической чувствительности и специфичности метода должны быть более 95 %.

В результате проведенных нами исследований по оптимизации методов микробиологической диагностики репродуктивно значимых инфекций составлен алгоритм исследования, включающий использование как микроскопических, так и молекулярно-биологических методов. При

рациональном использовании этих методов диагностики инфекций репродуктивного тракта возможно быстро и качественно поставить диагноз и вовремя начать лечение.

Создание алгоритма обследования беременных и планирующих беременность женщин для диагностики острой, впервые возникшей инфекции и латентной хронической (анамнестической) инфекции позволит правильно прогнозировать течение и исход беременности.

В заключение следует подчеркнуть важность создания независимой референс-лаборатории, которая, на основании опыта научно-исследовательской работы, могла бы осуществлять валидацию, стандартизацию используемых методов диагностики репродуктивно значимых инфекций, разрабатывать стандарты диагностики, а также внедрять контроль качества деятельности лабораторий.

Литература

1. Методические материалы по диагностике, лечению и профилактике наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путем / Савичева А. М., Соколовский Е. В., Домейка М. [и др.]. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2002. — 112 с.
2. Савичева А. М. Краткое руководство по микроскопической диагностике инфекций, передаваемых половым путем / Савичева А. М., Соколовский Е. В., Домейка М. — СПб.: Фолиант, 2004. — 128 с.
3. Инфекции, передаваемые половым путем, руководство для врачей / Соколовский Е. В., Савичева А. М., Домейка М., Айламазян Э. К., Беляева Т. В. — М.: Медпресс-информ, 2006. — 256 с.
4. Шипицына Е. В. Папиллома-вирусная инфекция: факторы риска цервикальной неопластической прогрессии / Шипицына Е. В., Бабкина К. А., Оржесковская Е. А., Савичева А. М. // Ж. акуш. и жен. болезн. — 2004. — Т. LIII, Вып. 3. — С. 38–45.
5. Шипицына Е. В. Метод амплификации нуклеиновых кислот NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) и возможности его применения в акушерско-гинекологической практике / Шипицына Е. В., Будилковская О. В., Савичева А. М. // Ж. акуш. и жен. болезн. — 2005. — Т. LIV, Вып. 2. — С. 83–89.
6. European STD Guidelines// International J. of STD & Aids. — 2001. — Vol. 12, Suppl. 3. — 102 p.
7. Gilbert R. Toxoplasmosis / Gilbert R. // Congenital and prenatal infections. — Cambridge: University press, 2000. — P. 305–320.
8. Guidelines for Treatment of Sexually Transmitted Diseases// CDC MMWR Recommendations and Reports. — 1998. — Vol. 47, N RR-1. — 117 p.
9. Naot Y. Method for avoiding falspositive results occurring in immunoglobulin M enzyme-linked factor and antinuclear antibodies / Naot Y., Barnett E. V., Remington J. S. // J. Clin. Microbiol. — 1985. — Vol. 21. — P. 931–935.
10. Peckman C. S. Cytomegalovirus infection, congenital and neonatal disease / Peckman C. S. // Scand. J. Infect. — 1991. — Vol. 78. — P. 82–87.
11. Ridgway G. L. Current problems in microbiology: 1. Chlamydial infections: which laboratory test? / Ridgway G. L., Taylor-Robinson D. // J Clin Pathol. — 1991. — Vol. 44. — P. 1–5.
12. Sexually Transmitted and Other Reproductive Tract Infections. A guide to essential practice. WHO N 186. — Geneva, 2005.
13. Laboratory Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* in St. Petersburg, Russia: inventory, performance characteristics and recommended optimization / Unemo M., Savicheva A., Budilovskaya O. [et al.] // Sex Transm Infect. — 2006. — Vol. 82. — P. 41–44.

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМОВ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ИППП

Е. В. Соколовский (s40@mail.ru), А. В. Игнатовский

Государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия.

Вопрос введения единых стандартов ведения пациентов в здравоохранении весьма актуален в последние годы в России. В прежние годы на территории бывшего СССР существовали инструкции по лечению таких заболеваний, как сифилис и гонорея. В 2003 году были разработаны и утверждены отраслевые стандарты: «Протокол ведения больных. Чесотка», «Протокол ведения больных. Сифилис», «Протокол ведения больных. Гонококковая инфекция». Внедрение этих приказов и протоколов ведения пациентов позволило сделать первые шаги в систематизации подходов по лечению ИППП. В то же время эти протоколы не содержат подробного ал-

горитма действий врача как в диагностике, так и в лечении пациентов и не отражают в полной мере проблем устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам в зависимости от региона страны. Несколько изменило ситуацию появление методических рекомендаций по лечению ИППП, разработанных в ЦКВИ в 2001 году. Однако данные рекомендации не являлись обязательным к исполнению документом для врачей всех специальностей и были доступны лишь врачам дерматовенерологам, тогда как в настоящее время проблемой ИППП занимается целый ряд врачей других специальностей. Разобщенные действия врачей разных специаль-