

# К ВОПРОСУ О РОЛИ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В КОМПЛЕКСНОЙ ДИАГНОСТИКЕ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Е.В. Горелова<sup>1</sup>, А.Г. Бойцов<sup>2</sup>, Т.В. Домакова<sup>1</sup>, В.С. Щеглов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Закрытое Акционерное Общество «Ситилаб», Санкт-Петербург

<sup>2</sup> ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург

**Резюме.** В настоящее время отсутствует общепризнанный алгоритм применения ПЦР при диагностике урогенитальных инфекций и интерпретации полученных результатов. В то же время применение этого метода для диагностики заболеваний обусловленных условно патогенными микроорганизмами, например *M. hominis*, *U. parvum*, может вести к необоснованному назначению антибактериальной терапии.

*Ключевые слова:* полимеразная цепная реакция, урогенитальная инфекция.

## ROLE OF POLYMERASE CHAIN REACTION IN THE COMPLEX DIAGNOSTICS OF UROGENITAL INFECTIONS

Gorelova E.V., Boitsov A.G., Domakova T.V., Sheglov V.S.

**Abstract.** The present day there is no universally accepted algorithm for the application of PCR for the diagnostics of urogenital infections and interpretation of results. At the same time, the application of PCR for diagnostics of infection by opportunistic such pathogens as *M. hominis*, *U. parvum* can make the antibiotic therapy to be unnecessary. (*Infekc. immun.*, 2011, vol. 1, N 2, p. 167–170)

*Key words:* polymerase chain reaction, urogenital infection.

## Введение

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) на сегодняшний день является наиболее универсальным методом выявления патогенных и условно патогенных микроорганизмов при воспалительных заболеваниях и дисбиотических состояниях органов мочеполовой системы. Согласно МКБ-10 к «истинным» инфекциям, передающимся половым путем (ИППП), относят следующие инфекции: гонококковую, хламидийную, трихомонадную, лимфогранулему, шанкرويد, паховую гранулему, сифилис. Однако причиной воспалительных заболеваний мочеполовой сферы могут быть многочисленные условно патогенные микроорганизмы, вызывающие микоплазмоз, уреаплазмоз, бактериальный вагиноз, кандидоз, генитальный герпес, папилломавирусную инфекцию и др. Клиническая дифференциация этих воспалительных заболеваний

различной этиологии без лабораторного пособия в большинстве случаев невозможна. К сожалению унифицированной схемы обследования пациентов с подозрением на воспалительные заболевания урогенитального тракта в России нет. Очевидно, что ее разработке должен предшествовать анализ частоты находок отдельных возбудителей с помощью тех или иных методов в условиях практических лабораторий.

## Материалы и методы

В работе использованы данные полученные в лаборатории ЗАО «Ситилаб» на протяжении 2009 г. Лаборатория ЗАО «Ситилаб» в Санкт-Петербурге обслуживает лечебные учреждения Санкт-Петербурга, Пскова и Великого Новгорода, силами которых осуществлялись взятие и доставка материала. Круг определяемых с помощью

поступила в редакцию 09.03.2011  
принята к печати 14.03.2011

### Адрес для переписки:

Бойцов Алексей Геннадьевич,  
д.м.н., профессор, зав. кафедрой  
микробиологии, вирусологии  
и иммунологии ГОУ ВПО «СПбГМА  
им. И.И. Мечникова»

195067, Санкт-Петербург,  
Пискаревский пр., 47,  
ГОУ ВПО «СПбГМА им. И.И. Мечникова»  
Тел.: (812) 543-16-20.  
Факс: (812) 543-01-95.  
E-mail: a195067@mail.ru

© Горелова Е.В. и соавт., 2011

ПЦР возбудителей выбранных в качестве предмета для анализа включал: *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma spp.* (*Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* совместно или раздельно), *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, папилломавирусы, вирусы герпеса 1 и 2 типов, цитомегаловирусы.

При диагностике всех инфекций, кроме вызываемых вирусами папилломы человека, использовался амплификатор «Rotor-Gene 3000» («Corbett Research», Австралия) с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени». Для выявления вирусов папиллом человека использовался амплификатор «Терцик» («ДНК-Технология», Россия) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле. Использовались комплекты реагентов для выделения, амплификации и детекции в агарозном геле производства ЦНИИ эпидемиологии Федеральной службы Роспотребнадзора (Россия). С целью диагностики уреоплазмозов по назначению лечащего врача использовали праймеры для выявления ДНК *Ureaplasma spp.* или *U. urealyticum* и *U. parvum*. Для индикации вирусов папиллом человека использовали «Набор реагентов для выявления и дифференциации ДНК вирусов папиллом человека высокого канцерогенного риска 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 53, 56, 58, 66 типов». Всего проанализированы результаты 58 136 постановок ПЦР с целью диагностики различных видов урогенитальных инфекций.

Для культурального выявления микоплазм и уреоплазм применяли тест-систему «Mycoplasma IST-2» (bioMerieux, Франция) согласно

инструкции производителя. Культуральный метод выявления хламидий осуществляли согласно [4] с индикацией хламидий с помощью ПИФ и заменой циклогексимида при сенсibilизации клетки преднизолоном. Для выявления трихомонад использовалась тест-система «Вагикульт» (Орион Диагностика, Финляндия).

## Результаты

При обследовании мужчин врачами чаще всего назначались исследования на *C. trachomatis*, *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* (3208, 3046 и 2098 исследований соответственно), а реже всего — на *N. gonorrhoeae* и *C. albicans* (907 и 870 исследований соответственно) и вирусы (табл. 1).

Женщин чаще всего обследовали на *C. trachomatis*, *Ureaplasma spp.*, *M. genitalium* (7866, 6533 и 4786 исследований соответственно), реже всего — на *C. albicans* и *N. gonorrhoeae* (474 и 418 исследований соответственно).

Исследования в ПЦР на возбудители вирусных инфекций в 2,7 раза чаще назначали женщинам, чем мужчинам, при этом лидирующее положение занимали папилломавирусы.

У мужчин из патогенных и условно патогенных возбудителей чаще всего выявляли уреоплазмы: *Ureaplasma spp.* (без дифференциации видов) — в (24,66±2,38)% случаев, *U. urealyticum* — в (20,5±1,94)%, *U. parvum* — в (3,75±0,92)%. Уреоплазмы занимали доминирующие позиции и у женщин: *Ureaplasma spp.* (без дифференциации видов) — в (42,66±2,78)% случаев, *U. urealyticum* — в (1,92±0,38)%, *U. parvum* — в (46±1,38)%. На 3-м месте по частоте находок, как у мужчин, так и у женщин, находились *G. vaginalis* [(19,02±1,98)%

**ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА НАХОДОК ВОЗБУДИТЕЛЕЙ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ У МУЖЧИН И ЖЕНЩИН С ПОМОЩЬЮ ПЦР**

Обнаружены	Мужчины				Женщины			
	Число обследованных	В том числе с положительным результатом			Число обследованных	В том числе с положительным результатом		
		абс.	%	НВИ 95*		абс.	%	НВИ 95
<i>C. trachomatis</i>	3208	203	6,33	5,47–7,19	7868	370	4,70	4,22–5,18
<i>M. hominis</i>	2098	147	7,01	5,89–8,13	4694	545	11,61	10,67–12,55
<i>M. genitalium</i>	1919	41	2,14	1,48–2,8	4786	88	1,84	1,46–2,22
<i>Ureaplasma spp.</i>	1314	324	24,66	22,28–27,04	1261	538	42,66	39,88–45,44
<i>U. urealyticum</i>	1732	355	20,50	18,56–22,44	5272	101	1,92	1,54–2,3
<i>U. parvum</i>	1732	65	3,75	2,83–4,67	5272	2425	46,00	44,62–47,38
<i>N. gonorrhoeae</i>	907	14	1,54	0,72–2,36	418	3	0,72	0–1,54
<i>G. vaginalis</i>	1567	298	19,02	17,04–21	2033	815	40,09	37,91–42,27
<i>C. albicans</i>	890	42	4,72	3,3–6,14	474	95	20,04	16,36–23,72
<i>T. vaginalis</i>	2031	15	0,74	0,36–1,12	2136	21	0,98	0,56–1,4
Папилломавирусы	452	104	23,01	19,05–26,97	3279	910	27,75	26,19–29,31
Вирусы простого герпеса 1–2	347	19	5,48	3,04–7,92	717	28	3,91	2,47–5,35
Вирусы герпеса 2	138	6	4,35	1,77–6,89	651	29	4,45	2,83–6,07
Цитомегаловирусы	254	11	4,33	1,77–6,89	686	54	7,87	5,81–9,93

**Примечание:** \* наиболее вероятный интервал при P = 95%.

и (40,09±2,18)% соответственно]. Обращает на себя внимание тот факт, что *C. trachomatis*, исследования с целью выявления которых назначались лечащими врачами чаще всего, выявлялись как у мужчин, так и у женщин относительно редко. Реже их, вне зависимости от пола, обнаруживались только три микроорганизма: *M. genitalium*, *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae* (табл. 1).

У значительной части обследованных одновременно выделялись 2 и более микроорганизма, способных вызвать воспалительные заболевания урогенитального тракта. Наиболее часто в состав микробной ассоциации входили уреоплазмы. Так выявление недифференцированных *Ureaplasma spp.* чаще всего сочеталось и у мужчин, и у женщин с обнаружением *G. vaginalis* (в (31,5±3,92)% и (23,79±4,1)% случаев соответственно). Одновременное присутствие *U. urealiticum* и *U. parvum* зарегистрировано у мужчин в (0,87±0,44)%, а у женщин — в (1,16±0,3)% случаев.

Нами была сопоставлена эффективность применения ПЦР и культуральных методов при диагностике хламидиоза, трихомониаза, уреоплазмоза и микоплазмоза.

Культуральный метод обнаружения хламидий был использован по назначению лечащего врача при обследовании 408 человек. Если в ПЦР, вне зависимости от пола, частота обнаружения хламидий составила (5,17±0,42)%, то для культурального метода этот показатель был равен (9,38±3,02)%. Сто два пациента на протяжении 1 месяца были обследованы двумя методами. При этом хламидии не были обнаружены ни одним из них в 87 случаях, двумя методами были обнаружены в 13, в 2 случаях возбудитель был обнаружен только с помощью ПЦР. Заболеваемость хламидиозом в Санкт-Петербурге в 2005 и 2006 гг. составляла соответственно 174,5 и 161,7 случаев на 100 000 населения [2].

Культуральный метод индикации трихомонад был использован по назначению лечащих врачей 438 раз. При этом положительный результат был получен только однократно (0,23±0,46)%. В ПЦР из 4167 исследований положительными были 36 (0,86±0,28)%. Отметим, что заболеваемость трихомониазом в Санкт-Петербурге составляла 263,6 на 100 000 населения [1].

Уреоплазмы без учета пола и вида праймеров (с дифференциацией или без дифференциации видов) с помощью ПЦР были обнаружены в (38,96±1)% случаев. С помощью системы «Mycoplasma IST-2» при обследовании 1621 человека уреоплазмы обнаруживались существенно реже — в (28,38±2,24)%, что не удивительно, учитывая более высокую чувствительность методов генодиагностики и их меньшую зависимость от условий транспортировки исследуемого материала. При этом примерно в 1/3 случаев (123 из 460) титр уреоплазм по результатам культурального исследования был меньше диагностически значимого — 10<sup>4</sup> КОЕ/мл (табл. 2).

*M. hominis* с помощью ПЦР были обнаружены у (10,19±0,74)% мужчин и женщин. Культуральное исследование позволило выявить микоплазмы этого вида у (5,8±1,16)% обследованных. Более чем в половине случаев титр искомым микроорганизмов был меньше диагностического (табл. 3).

## Обсуждение

В России в настоящее время отсутствует стандартная схема обследования больных с воспалительными заболеваниями урогенитальной сферы. Выбор методов исследования и круг выявляемых микроорганизмов, потенциально причастных к патологическому процессу, определяется лечащим врачом исходя из личных, часто субъективных, представлений об этиологической значимости отдельных инфекционных агентов,

**ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ УРЕОПЛАЗМ КУЛЬТУРАЛЬНЫМ МЕТОДОМ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ «MYCOPLASMA IST-2» (bioMERIEUX, ФРАНЦИЯ) ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ 549 МУЖЧИН И 1072 ЖЕНЩИН**

Уреоплазмы обнаружены	Мужчины		Женщины		Всего	
	Число случаев	Частота обнаружения в %	Число случаев	Частота обнаружения в %	Число случаев	Частота обнаружения в %
В титре < 10 <sup>4</sup>	29	5,28±1,92	94	8,77±1,72	123	7,59±1,32
В титре > 10 <sup>4</sup>	70	12,75±2,84	267	24,91±2,64	337	20,79±2,02
Всего	99	18,03±3,28	361	33,68±2,88	460	28,38±2,24

**ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ *M. HOMINIS* КУЛЬТУРАЛЬНЫМ МЕТОДОМ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ «MYCOPLASMA IST-2» (bioMERIEUX, ФРАНЦИЯ) ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ 549 МУЖЧИН И 1072 ЖЕНЩИН**

<i>M. hominis</i> обнаружены	Мужчины		Женщины		Всего	
	Число случаев	Частота обнаружения в %	Число случаев	Частота обнаружения в %	Число случаев	Частота обнаружения в %
В титре < 10 <sup>4</sup>	6	1,09±0,88	53	4,94±1,32	59	3,64±0,94
В титре > 10 <sup>4</sup>	0	0±1,44	35	3,26±1,08	35	2,16±0,72
Всего	6	1,09±0,88	88	8,21±1,68	94	5,8±1,16

а так же, учитывая, что исследования чаще всего платные, — финансовых возможностей пациента. Наиболее часто при обследовании больных данного профиля в нашей стране используется ПЦР.

Ценность ПЦР при диагностике вирусных инфекций несомненна, метод широко используется практикующими врачами для выявления в первую очередь папилломавирусной инфекции. В то же время настораживает практически равная частота запросов на выявление вирусов герпеса первого и второго типов и только второго типа (соответственно  $(1,83 \pm 0,12)\%$  и  $(1,36 \pm 0,1)\%$  от общего числа исследований в ПЦР). Это может указывать на то, что не все практикующие врачи осознают этиологическую значимость вирусов первого типа при поражении гениталий.

ПЦР чаще всего используется лечащими врачами с целью диагностики хламидиоза. В нашем случае постановка ПЦР с целью выявления *C. trachomatis* составила  $(19,05 \pm 0,32)\%$  случаев от общего числа анализов, выполненных с помощью данного метода. На основании проанализированных в настоящей статье данных следует признать, что применение культурального метода для диагностики хламидийной инфекции в большинстве случаев не оправдано.

Исследования на трихомониаз составили  $(7,17 \pm 0,22)\%$  от общего числа случаев использования ПЦР. При этом частота находок трихомонад методом генодиагностики оказалась почти в 4 раза выше, чем при применении культурального метода. По нашему мнению вопрос о выборе оптимального метода для диагностики данного заболевания нуждается в дальнейшем уточнении, так как эффективность культурального метода во многом определяется способом взятия и транспортировки материала.

Из числа микоплазм, встречающихся в мочеполовых путях, патогенными считают только *M. genitalium* [6]. Тем не менее, лечащие врачи чаще назначали исследование в ПЦР на *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* При этом, с одной стороны, *M. genitalium* в условиях практического здравоохранения могут быть выявлены только в ПЦР, а с другой — сам по себе факт обнаружения *M. hominis* и *Ureaplasma spp.*, как правило, не имеет диагностического значения, так как их этиологическую роль можно с той или иной долей вероятности оценить только по результатам количественных исследований [3, 5]. Несмотря на то, что имеются отдельные указания на большую вирулентность *U. urealiticum* по сравнению с *U. parvum*, оба вида расцениваются как условно патогенные микроорганизмы, сам факт обнаружения которых не является однозначным показанием к антибиотикотерапии. В связи с этим возникают определенные сомнения в целесообразности их раздельного определения в ПЦР, что влечет за собой удорожание исследования.

Также сомнительна и целесообразность применения неколичественных вариантов ПЦР для ин-

дикации других условно патогенных микроорганизмов. Тем не менее, несмотря на неоднозначность трактовки результата, практические врачи назначали исследование в ПЦР на *G. vaginalis* и *C. albicans* даже чаще, чем для выявления безусловного патогена *N. gonorrhoeae* (соответственно  $(6,19 \pm 0,2)\%$ ,  $(2,35 \pm 0,12)\%$  и  $(2,28 \pm 0,12)\%$  от общего числа исследований, выполненных с помощью ПЦР). Следует отметить, что в случае *C. albicans* не однозначен как положительный, так и отрицательный результат, так как этот микроорганизм не является единственно возможным этиологическим агентом при кандидозе половых органов. Его причиной могут быть также *Candida glabrata*, *Candida krusei* и другие представители рода *Candida*.

## Заключение

Среди практических врачей ПЦР остается одним из наиболее популярных методов этиологической диагностики воспалительных заболеваний женской половой сферы. При этом метод используется для выявления как облигатно-патогенных, так и условно патогенных микроорганизмов. Если результаты ПЦР при индикации вирусов, хламидий, трихомонад, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* достаточно однозначны, то в случае исследований на *M. hominis*, *Ureaplasma spp.*, *G. vaginalis*, *C. albicans* использование только качественного варианта реакции может повлечь за собой диагностическую ошибку.

## Список литературы

1. Ермоленко Д.К., Исаков В.А., Рыбалкин С.Б., Смирнова Т.С., Захаркив Ю.Ф. Урогенитальный трихомониаз: Пособие для врачей. — СПб.— Великий Новгород, 2007. — 96 с.
2. Исаков В.А., Куляшова Л.Б., Березина Л.А., Нуралова И.В., Гончаров С.Б., Ермоленко Д.К. Патогенез, диагностика и терапия урогенитального хламидиоза: Рук. для врачей / Под ред. А.Б. Жебруна. — СПб., 2010. — 112 с.
3. Кисина В.И., Прилепская В.Н., Соколовский Е.В., Савичева А.М., Забиров К.И., Гушин А.Е., Гомберг М.А. Дискутабельные вопросы клинического значения генитальных микоплазм // Клин. дерматол. и венерол. — 2007. — № 1. — С. 71–77.
4. Кудрявцева Л.В., Мисюрин О.Ю., Генерозов Э.В., Говорун В.М., Бурова А.А., Маликов В.Е., Липова Е.В., Баткаев Э.А. Клиника, диагностика и лечение хламидийной инфекции: Пособие для врачей. — М.: РМАПО, 2001. — 61 с.
5. Савичева А.М., Шипицына Е.В., Башмакова М.А. Генитальные микоплазмы — проблемы диагностики и лечения // Клин. дерматол. и венерол. — 2008. — № 6. — С. 80–90.
6. Castellano-Gonzalez M., Ginestre-Perez M., Perozo-Mena A., Alana F., Fernandez-Bravo M., Rincon-Villalobos G. Vaginal colonization by genital mycoplasmas in pregnant and non-pregnant women // Invest. Clin. — 2007. — Vol. 48, № 4. — P. 419–429.