

**Лабораторная диагностика и терапия репродуктивно значимых инфекций**  
**А. М. Савичева**

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 урогенитальными инфекциями. Одним из успешных путей сокращения заболеваемости является качественная и своевременная диагностика не только урогенитальных инфекций, но и всех инфекций, влияющих на репродуктивное здоровье населения.

К репродуктивно значимым инфекциям относят урогенитальные 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 урогениталий и как оценить результаты исследований.

В течение десяти лет (1998–2007 гг.) в Ленинградской области и шести лет (2001–2007 гг.) 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 и представить практически приемлемый алгоритм диагностики, терапии и контроля излеченности.

### Особенности диагностики репродуктивно значимых инфекций

Материалы и методы. Для исследования на наличие возбудителей уrogenитальных 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 (полимеразно-цепная реакция (ПЦР) и другие), серологические (иммуноферментный анализ (ИФА)).

Нормальная микрофлора уrogenитального тракта. Из огромного количества разнообразных микроорганизмов, которые находятся в уrogenитальном 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*), уреоплазмы (*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 [2, 3, 4].

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, уреоплазмы, вибрионы рода *Mobiluncus*, анаэробные кокки и анаэробные бактерии [3, 7, 13].

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 [3, 7, 13].

Диагностика гонореи. Для диагностики гонореи на сегодняшний день недостаточно проведения микроскопического исследования материалов, полученных из цервикального канала или уретры женщин, с окраской их по Граму, 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 [14].

Диагностика урогенитальной хламидийной инфекции. Для диагностики инфекции, вызванной *Chlamydia trachomatis*, используются культуральные и иммунофлюоресцентный (прямой иммунофлюоресценции (ПИФ)) методы, а также 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 составляет 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 [12, 13].

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 [6].

Выявление генитальных микоплазм. Для выявления генитальных микоплазм необходимо использовать культуральный метод или метод ПЦР в реальном времени, позволяющий 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 клеток 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 же время более низкие концентрации не должны учитываться, поскольку в таких количествах микоплазмы (кроме патогенных видов) могут обнаруживаться у здоровых людей. Недопустимо использование методов ПИФ для выявления генитальных микоплазм, а также серологических методов выявления антител [1].

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 рекомендаций 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 [5].

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 [8, 11]. 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 антител IgG, IgG-авидность и IgM [10].

#### Особенности терапии репродуктивно значимых инфекций

Основа терапии репродуктивных инфекций — назначение специфических антибактериальных, противовирусных или антипротозойных препаратов. Существуют международные и европейские методические рекомендации, регламентирующие назначение тех или иных терапевтических средств [7, 9, 13].

При лечении гонореи в первую очередь назначается один из следующих препаратов: цефтриаксон, цiproфлоксацин или цефиксим. Альтернативными препаратами являются спектиномицин, офлоксацин, ломефлоксацин.

При лечении урогенитальной хламидийной инфекции, согласно международным стандартам, назначаются или азитромицин, или доксициклин, или джозамицин. Альтернативными препаратами являются: эритромицин, спирамицин, офлоксацин, рокситромицин, ломефлоксацин, кларитромицин.

В 2006 году нами суммированы данные, приведенные в международных руководствах по диагностике и терапии инфекций, передаваемых половым путем, и издано руководство для врачей [4].

Кроме того, нами проведен цикл работ, посвященных назначению тех или иных антибиотиков. На первом этапе исследований антибактериальной активности нами была отработана методика проведения теста изучения антибиотикочувствительности хламидий. При этом было показано отсутствие какой-либо корреляции между чувствительностью хламидий к антибиотикам *in vitro* и успехом или неудачей терапии урогенитальной хламидийной инфекции.

В дальнейшем мы провели мониторинг терапии урогенитального хламидиоза с применением двух антибиотиков (доксциклин — Юнидокс Соллютаб® и джозамицин — Вильпрафен®) с тем, чтобы показать, насколько быстро исчезают хламидии на фоне терапии.

Материалами для исследования служили мазки-соскобы из цервикального канала у женщин и уретры у мужчин.

Вильпрафен® назначался внутрь по 500 мг 2 раза в день в течение 10 дней, Юнидокс Соллютаб® — внутрь по 100 мг 2 раза в день 10 дней.

Для оценки эффективности элиминации хламидий в ходе терапии пациенткам было предложено лечение одним из этих препаратов и проведение контрольных исследований во время терапии (на 2, 5, 7 и 10 день после начала лечения) и после лечения (через 1, 2, 3 недели и 1, 3 и 6 месяцев). Контрольные исследования проводили тремя методами одновременно: культуральным, методом ПЦР и методом NASBA в реальном времени.

Уже в первые дни приема Вильпрафена® или Юнидокса Соллютаба® пациентки, обратившиеся к врачу с жалобами, отметили существенное улучшение самочувствия, а к концу лечения врачи констатировали улучшение клинической картины в большинстве случаев.

Результаты микробиологических исследований оказались следующими: на 2 день приема препарата хламидии были обнаружены культуральным методом только у 37% пациентов, в то время как все пробы были положительными при исследовании методом ПЦР. Во все остальные сроки исследований, проводимых на фоне терапии, хламидии в культуре клеток не выделялись. Уже на 7 день терапии количество пациентов, у которых хламидии выявлялись методом ПЦР, сократилось вдвое, на 10 день — втрое, а через 3 недели после окончания лечения ПЦР давала отрицательные результаты у всех пациентов. Метод NASBA в реальном времени, позволяющий определить только жизнеспособного возбудителя по наличию mPHK, показал следующие результаты: на 2 день терапии Вильпрафеном® хламидии сохранялись у 82% женщин, на 5 день — у 45%, на 7 день — у 20%, на 10 день — у 7%. При лечении Юнидоксом Соллютабом® — динамика элиминации хламидии была такой же, как и при лечении Вильпрафеном®. Однако при лечении Юнидоксом Соллютабом® на 10 день терапии хламидии уже не выявлялись при использовании метода NASBA. Таким образом, данные мониторинга свидетельствуют о быстрой элиминации возбудителя в ходе лечения. Курс терапии Вильпрафеном® и Юнидоксом Соллютабом® продолжительностью в 10 дней является оправданным.

Сочетание ПЦР и культурального метода представляется нам эффективным при проведении контроля излеченности урогенитальной хламидийной инфекции. Так как

нежизнеспособные хламидии могут обнаруживаться в клетках эпителия цервикального канала и уретры еще некоторое время после завершения лечения (в нашем исследовании хламидии были выявлены через 1 неделю после окончания терапии у трех пациентов), то проведение контроля излеченности можно рекомендовать не ранее чем через 2–3 недели после окончания лечения. Применение метода NASBA в реальном времени представляется перспективным как для диагностики, так и для контроля излеченности, т. к. позволяет определить жизнеспособность возбудителя.

Что касается генитальных микоплазм, то в 2007 году выработан консенсус специалистов, занимающихся вопросами диагностики и терапии инфекций, ассоциированных с микоплазмами [1]. Т. к. *M. genitalium* в настоящее время относят к патогенным микроорганизмам, то при выявлении этого микроорганизма всегда назначается этиотропное лечение. При выявлении *U. urealyticum* и *M. hominis* (относящихся к условно патогенным микроорганизмам) лечение следует назначать, если других бактериальных/вирусных агентов, кроме микоплазм, не выявлено при:

наличии клинических и лабораторных признаков воспалительного процесса органов мочеполовой системы;  
предстоящих оперативных или других инвазивных лечебно-диагностических манипуляциях в области мочеполовых органов;  
отягощенном акушерско-гинекологическом анамнезе (невынашивание беременности, бесплодие, перинатальные потери и др.);  
осложненном течении настоящей беременности, предполагающим возможное инфицирование плода.

Лечение следует назначать при наличии у пациентов клинических проявлений воспалительного процесса и в том случае, если *U. urealyticum* и *M. hominis* выявляются в количестве более 104 КОЕ/мл.

Наиболее активными антибиотиками *in vitro* для элиминации всех видов генитальных микоплазм являются из макролидов джозамицин, из тетрациклинов доксициклин. При выявлении *M. genitalium* наиболее эффективны азитромицин, джозамицин, доксициклин.

При выборе метода терапии при кандидозном вульвовагините важно определиться, имеет место острый или рецидивирующий процесс. При остром вульвовагините, вызванном дрожжеподобными грибами рода *Candida*, согласно международным стандартам, назначают преимущественно препараты местного действия, такие как эконазол, изоконазол, клотримазол, натамицин или комплексный препарат Тержинан. В ряде случаев назначают препараты внутрь. Одним из таких препаратов является флуконазол. Этот препарат выпускается разными фирмами под разными названиями. Нами апробирован и применяется Микофлюкан® в одноразовой дозе 150 мг при остром кандидозном вульвовагините. В настоящее время изучается действие этого препарата при лечении хронического рецидивирующего кандидозного вульвовагинита.

При лечении бактериального вагиноза, а также трихомоноза с успехом используется метронидазол (Трихопол®) как внутрь, так и местно во влагалище. Следует подчеркнуть, что при бактериальном вагинозе важное значение имеет восстановление нарушенного микробиоценоза влагалища и повышение местного иммунитета с помощью эубиотиков (Бифиформ, Бифидумбактерин, Ацилакт и др.).

Не следует забывать о таком комплексном препарате для местного применения, как Тержинан, который может использоваться как при лечении бактериального вагиноза,

урогенитального кандидоза, так и неспецифических воспалительных заболеваний влагалища.

## 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 обследования, 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.

Для диагностики уrogenитального хламидиоза составлен алгоритм исследования, включающий использование одновременно двух методов (культурального в сочетании с ПЦР). Внедрение в практику такого метода, как NASBA, в реальном времени позволит пересмотреть понятие «золотого стандарта». Этот метод может быть использован в качестве арбитражного подтверждающего теста, а также для проведения контроля излеченности.

Определение ВПЧ в цервикальном канале, вирусной нагрузки, статуса вирусной ДНК может использоваться в скрининговых программах по ранней диагностике рака шейки матки.

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.

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 лаборатории.

Лечение репродуктивно значимых инфекций регламентировано международными и европейскими стандартами. Требуется разработка федеральных стандартов по проведению диагностики и терапии инфекционных заболеваний репродуктивного тракта как женщин, так и мужчин.

## Литература

1. Прилепская В. Н., Кисина В. И., Соколовский Е. В., Савичева А. М., Гомберг М. А., Гущин А. Е., Забиров К. И., Ширшова Е. В. К вопросу о роли микоплазм в уrogenитальной патологии // Гинекология. 2007; 9 (1): 31–38.
2. Савичева А. М., Соколовский Е. В., Домейка М., Смирнова Т. С., Павлова Н. Г., Беляева Т. В., Аравийская Е. Р., Антонов М. М. Методические материалы по диагностике, лечению и профилактике наиболее распространенных инфекций,

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

А. М. Савичева, доктор медицинских наук, профессор  
НИИАиГ им. Д. О. Отга РАМН, Санкт-Петербург

<http://www.lvrach.ru/doctore/2008/03/4910023/>