



¹ Т. И. Долгих,
профессор, доктор
медицинских наук,
заведующая Центральной
научно-исследовательской
лабораторией и руководитель
Академического центра
лабораторной диагностики

¹ С. Б. Галилейская,
врач клинической лабораторной диагностики
Центра лабораторной диагностики,

¹ М. Ю. Шелев,
врач клинической лабораторной диагностики
Центра лабораторной диагностики

¹ Л. И. Лазарева,
заведующая лабораторией клинической
и экспериментальной микробиологии
Центра лабораторной диагностики,

¹ ГОУ ВПО Омская государственная
медицинская академия,

² Е. М. Овчинникова,
акушер-гинеколог,

² Городской клинический родильный дом № 4,
г. Омск

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СКРИНИНГОВЫХ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА УРОГЕНИТАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Несмотря на значительные достижения в области лабораторной диагностики, связанные с внедрением генетических методов исследования, и широкое использование современных антимикробных препаратов, проблема диагностики и лечения заболеваний урогенитального тракта, особенно у пациентов высокого инфекционного риска и беременных женщин, еще далека от своего решения.

В настоящее время продолжается поиск факторов риска формирования хронической патологии, изучается секреторный (мукозальный) иммунитет, уточняется роль вирусов (*цитомегаловируса, вирусов простого герпеса 1 и 2 типов, папилломавирусов*) и оценивается их вклад в развитие инфекционного процесса. Пристальное внимание клиницистов и исследователей в последние годы обращено на микозы

(преимущественно кандидозы), которые нередко развиваются в результате использования антимикробных препаратов и имеют склонность к рецидивам.

Наряду с этим, результаты исследований последних лет диктуют целесообразность комплексного подхода к диагностике заболеваний урогенитального тракта. В отношении хламидийной инфекции, вызываемой *Chlamydia trachomatis*

(внутриклеточный патоген), общепризнанным фактом является использование полимеразной цепной реакции (ПЦР), которая отнесена к референтным методам и рекомендована к использованию при верификации диагноза и на этапе контроля эффективности лечения. Внедрение в последние годы скрининговых тест-систем для количественного определения уреаплазм/микоплазм в соскобах из урогенитального тракта значительно повысило диагностическую значимость исследований, особенно при мониторинге антимикробной терапии.

Вместе с тем, для скрининга на урогенитальные инфекции и при выборе тактики лечения пациентов, особенно при рецидивирующей инфекции и отсутствии эффекта от проводимой терапии, возникает необходимость определения количества патогенов и исключения неблагоприятного влияния условно-патогенных микроорганизмов, которым на определенных этапах лечения может принадлежать «лидирующая» роль в поддержании патологического процесса в результате изменения состава микрофлоры (возникновение дисбиоза), а также необходимость определения чувствительности к антибиотикам. Это обуславливает широкое использование бактериологических методов исследования. Учитывая данные обстоятельства, следует признать, что классические (стандартные) микробиологические методы требуют совершенствования как в плане создания «профилей» и сокращения сроков исследования, так и в плане снижения трудозатрат на проведение исследований.

С целью оптимизации диагностического процесса при урогенитальной патологии в последние годы в Академическом центре лабораторной диагностики проведены научно-практические исследования, в которые были включены тест-система для культивирования и идентификации «VAGITEST» и тест-системы для идентификации микроорганизмов и параллельного определения чувствительности к антибиотикам «A. F. GENITAL SYSTEM» и «MYCOPLASMA SYSTEM PLUS» (производство компании «LIOFILCHEM S.R.L.», Италия).

«A. F. GENITAL SYSTEM» представляет собой систему с 24 лунками, содержащими сухие биохимические субстраты и антибиотики. Система инокулируется суспензией клинического образца и инкубируется при 37°C в течение 18–24 часов. Она предназначена для количественного определения, идентификации и определения чувствительности к антимикробным препаратам урогенитальных микоплазм (*U. urealyticum* и *M. hominis*) и для одновременного обнаружения еще 10 наиболее часто встречающихся микроорганизмов: *Trichomonas vaginalis*, *Candida sp.*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Gardnerella vaginalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoe*, *Streptococcus agalactiae* (группа B).

Для определения чувствительности к антимикробным препаратам в состав системы входит 9 антибиотиков: тетрациклин 8 мг/л, пefлоксацин 16 мг/л, офлоксацин 4 мг/л, доксициклин 8 мг/л, эритромицин 16 мг/л, кларитромицин 16 мг/л, миноциклин 8 мг/л, джозамицин 8 мг/л, клиндамицин 8 мг/л.

«MYCOPLASMA SYSTEM Plus» — быстрая 18-луночная система для количественного определения, идентификации и определения чувствительности к антимикробным препаратам урогенитальных микоплазм (*U. urealyticum* и *M. hominis*), выделенных из вагинальных и уретральных секретов и эякулята. Система также позволяет параллельно оценить присутствие *Trichomonas vaginalis* и *Candida sp.* и содержит 9 антибиотиков в двух концентрациях (тетрациклин 4 мг/л и 8 мг/л, пefлоксацин 8 мг/л и 16 мг/л, офлоксацин 1 мг/л и 4 мг/л, доксициклин 4 мг/л и 8 мг/л, эритромицин 8 мг/л и 16 мг/л, кларитромицин 8 мг/л и 16 мг/л, миноциклин 4 мг/л и 8 мг/л, клиндамицин 4 мг/л и 8 мг/л, азитромицин 4 мг/л и 8 мг/л).

При исследовании биоматериала от 106 пациентов был использован набор дип-слайдов для культивирования и идентификации гемофильных бактерий, лактобактерий, *Gardnerella vaginalis* и патогенных нейссерий (тест-система «VAGITEST»).

После внесения биоматериала тест-системы помещались в CO²-инкубатор на 18–24 час., при этом установлено, что использование CO²-инкубатора в лабораторной практике более предпочтительно, чем классический термостат, поскольку в нем лучше росли гемофильные бактерии, патогенные нейссерии и *Gardnerella vaginalis*.

Первый фрагмент работы был посвящен изучению микробного пейзажа у пациентов с наличием воспалительных заболеваний мочеполовой системы, при этом были обследованы 1665 человек в возрасте от 19 лет до 39 лет (средний возраст 29,8±5,6), в том числе 305 мужчин и 1360 женщин. Для бактериологических исследований биоматериал из урогенитального тракта забирали в транспортную среду к «MYCOPLASMA SYSTEM Plus» (производство компании «LIOFILCHEM S.R.L.», Италия). Преимуществом данного типа тест-систем явилась комплексная и ускоренная диагностика с выдачей результата анализа через 24–48 час., что для клиницистов имело важное значение в плане выбора тактики ведения пациента.

Второй фрагмент работы предполагал оценить диагностическое и прогностическое значение «профильных» тест-систем для мониторинга беременных женщин с подозрением на наличие инфекционной перинатальной патологии. Поскольку классический бактериологический метод с использованием питательных сред позволял получить результат с определением чувствительности к антибиотикам только через 7–10

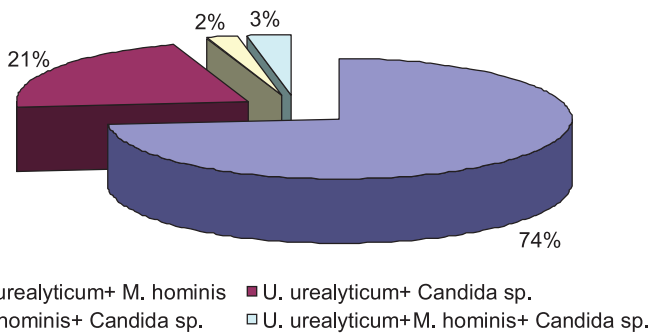


Рис. 1. Структура ассоциантов при бактериологическом исследовании отделяемого из половых органов у мужчин (в %).

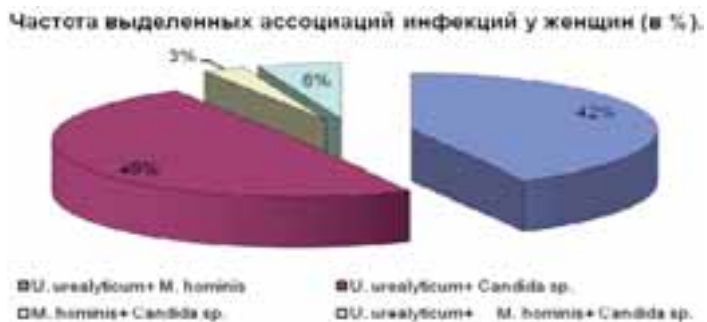


Рис. 2. Структура ассоциантов при бактериологическом исследовании отделяемого из половых органов у женщин (в %).

Резистентность U. urealyticum к антимикробным препаратам (в %).

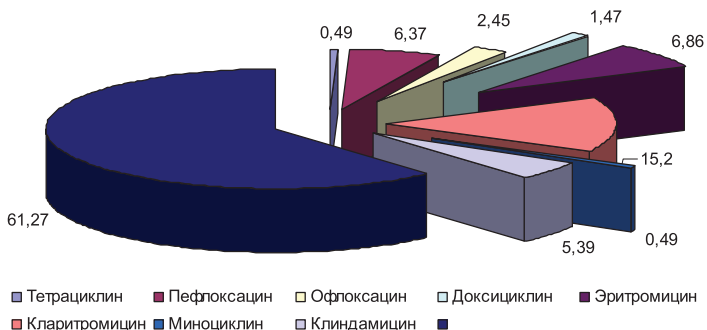


Рис. 3. Резистентность U. urealyticum выявленных у мужчин и женщин к антимикробным препаратам (в %).

Резистентность M. hominis к антимикробным препаратам (в %).

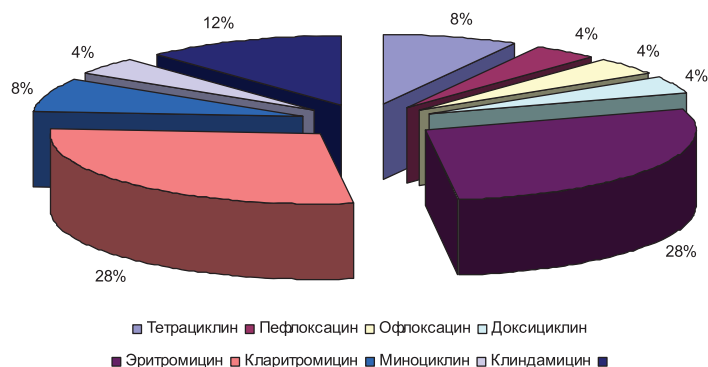


Рис. 4. Резистентность M. hominis выявленных у мужчин и женщин к антимикробным препаратам (в %).

Титры U. urealyticum в (%)



Рис. 5. Структура титров U. urealyticum, выделенных на системе «A. F. GENITAL SYSTEM».

дней, то была поставлена задача — найти вариант комплексной и ускоренной диагностики. В связи с этим выбор был сделан в пользу указанных выше наборов.

Для решения данной задачи проведено когортное проспективное исследование, в котором приняли участие 121 женщина из числа поступивших в родильный дом на срочные и преждевременные роды, при чем у 63 женщин имело место дородовое либо преждевременное излитие околоплодных вод. Пациентки были разделены на 3 подгруппы в зависимости от длительности безводного периода (менее 16 час; от 16 до 24 час.; более 24 час.). Околоплодные

воды и соскобы со стенок матки, доставленные в лабораторию, были исследованы микробиологическим методом на тест-системе «A. F. GENITAL SYSTEM» в связи с необходимостью быстрой (оперативной) диагностики, поскольку по соответствующим критериям роженицы были отнесены к группе высокого инфекционного риска, и речь шла об оценке риска развития системного воспаления и выборе тактики родоразрешения (активной или выжидательной).

Обработка данных проводилась с применением статистических методов (параметрических и непараметрических методов, корреляционного анализа) на персональном компьютере с исполь-

зованием программ Microsoft Office 2007 Word, Excel.

Результаты исследований при выполнении первого фрагмента работы показали, что в доле положительных проб (46,9%) на урогенитальные инфекции удельный вес *U. urealyticum* и *M. hominis* составил 54,6% и 5,1% соответственно. В 366 (86,0%) случаях уреаплазмы определялись в диагностических титрах.

При этом процент положительных проб от женщин на уреоплазмоз превышал таковой у мужчин в 2,5 раза ($p < 0,01$), а на микоплазмоз — в 7 раз ($p < 0,001$) (рис. 1 и 2). Число ассоциаций микроорганизмов в общей доле обследованных лиц составил 11,7% с преобладанием у женщин, у которых они выявлялись в 3,1 раза чаще, чем у мужчин ($p < 0,01$). Среди ассоциаций вариант *U. urealyticum* + *M. hominis* превалировал у мужчин (70,0%), а вариант *U. urealyticum* в сочетании с *Candida* spp. чаще отмечался в пробах, полученных от женщин (49,3%). Вариант *M. hominis* + *Candida* sp. и *M. hominis* + *Candida* spp. + *U. urealyticum* составили всего 2,6% и 5,6% соответственно от общего количества положительных результатов.

Следует отметить, что каждый третий пациент указывал на бесконтрольное применение антибиотиков, решение по поводу использования которых принимал самостоятельно без обращения к врачу, учитывая широкую рекламу и доступность антимикробных препаратов в аптечной сети.

Определение чувствительности к антимикробным препаратам с использованием указанных тест-систем показало, что из 302 выделенных культур оказались резистентными к антибиотикам 67,5% *U. urealyticum* и 83,3% *M. hominis*. Наибольшую резистентность культуры *U. urealyticum* проявили в отношении препаратов группы макролидов, таких как джозамицин (61,3%), кларитромицин (15,2%), эритромицин (6,9%) и группы фторхинолонов — пefлоксацин (6,4%). Культуры *M. hominis* оказались наиболее устойчивы к препаратам группы макролидов: к эритромицину (28,0%) и к кларитромицину (28,0%). (рис. 3 и 4).

Поскольку в 86% случаев *U. urealyticum* были выделены в диагностически значимых титрах (рис. 5), то врачи выбрали соответствующую тактику ведения данной категории пациентов с учетом чувствительности к антибиотикам.

При анализе иных положительных находок, кроме микоплазм и уреоплазм, при исследовании биоматериала на микрофлору и дисбиоз обращал на себя внимание тот факт, что при хронически протекающем воспалении урогенитального тракта у мужчин в качестве возможных патогенов в 15–18% случаев выступали: *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, реже — *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae* (*группа B*); у 10,3% пациентов был выделен *Proteus* и у

7,5% — *Pseudomonas*. У женщин в качестве кофактора воспаления выступали чаще *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* (*группа B*), *Proteus*. Грибы рода *Candida* были выделены у 19,2% пациентов, при этом следует отметить, что микробиологический мониторинг, проводимый в течение последних 3 лет в г. Омске показал, что частота выделения грибов из биоматериала при хронических урогенитальных инфекциях за этот период возросла в 3,3 раза ($p < 0,01$), а *Proteus* — в 2,5 раза.

Эти данные свидетельствовали о выраженном дисбиозе как у мужчин, так и у женщин, встречались в виде микст-инфекции у каждого третьего пациента и обосновывали целесообразность коррекции схем терапии и реабилитации.

Результаты второго фрагмента исследования показали достаточно высокое диагностическое и прогностическое значение использования комплексных скрининговых тест-систем в акушерстве и гинекологии. Изучение микробного пейзажа околоплодных вод рожениц показал важное значение условно-патогенной микрофлоры, среди которой первые ранговые места занимали: *Proteus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* и *Staphylococcus*. Грибы рода *Candida* были выделены в 10,9% случаев. При исследовании соскобов со стенок матки микробный пейзаж был иной: превалировал *Streptococcus faecalis* (у каждой третьей женщины), *U. urealyticum* и *Staphylococcus*; *Candida* были обнаружены в 12,2%. Установлена прямая выраженная корреляционная связь между степенью обсемененности околоплодных вод и продолжительностью безводного периода: при сроке более 16 час. и, особенно, более 24 час. наблюдался массивный рост бактерий в околоплодных водах. Полученная дополнительная информация о чувствительности к антибиотикам уже через 24–48 час. от момента поступления биоматериала в лабораторию позволяла проводить своевременную адекватную коррекцию, обосновывала тактику активного родоразрешения при наличии маркеров системного воспаления, улучшала исходы, приводила к снижению числа гнойных осложнений у родильниц.

Таким образом, проведенная научно-практическая работа показала высокую эффективность использования комплексных скрининговых тест-систем для идентификации микроорганизмов и определения чувствительности к антибиотикам «**A.F. GENITAL SYSTEM**» и «**MYCOPLASMA SYSTEM PLUS**» в практике врача, особенно, в акушерстве и гинекологии. Продолжающееся развитие микробиологии в плане создания «профилей» для различных групп заболеваний значительно расширяет диагностический потенциал, способствует эффективному лечению и развитию корректной реабилитации на основе персонализированного подхода. ©