



Е.П. Шевченко<sup>1</sup>, Е.Ю. Мацас<sup>2</sup>,  
Е.И. Мулькина<sup>2</sup>, О.Н. Слободянюк<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский университет  
имени А.А. Богомольца, Киев

<sup>2</sup>Александровская клиническая больница, Киев

## Метод амплификации нуклеиновых кислот в лабораторной диагностике урогенитальных микст-инфекций

### Ключевые слова

Урогенитальные микст-инфекции, лабораторная диагностика, метод амплификации нуклеиновых кислот (метод полимеразной цепной реакции).

Урогенитальные инфекции являются наиболее распространенными среди инфекций, передающихся половым путем (ИППП), и продолжают оставаться актуальной проблемой здравоохранения. На современном этапе преобладают латентные и персистирующие формы клинического течения урогенитальных инфекций, что существенно усложняет их своевременную диагностику. Поэтому вопрос о своевременной и рациональной диагностике этих заболеваний является крайне важным [2, 4–6].

Воспалительные заболевания половых и мочевыводящих органов, этиологическими агентами которых могут быть как патогенные, так и условно-патогенные микроорганизмы, являются одной из наиболее частых причин обращения пациентов к дерматовенерологам, акушерам-гинекологами и урологам. Урогенитальные инфекции у мужчин и женщин могут приводить к серьезным нарушениям репродуктивной функции. Моноинфекции встречаются достаточно редко. В генезе большинства патологических изменений, происходящих в мочеполовой системе, доминирующее место занимают микст-инфекционные агенты. Особое значение в этом аспекте имеют хламидии и микоплазмы.

Хламидийные и микоплазменные урогенитальные инфекции характеризуются широким распространением и многообразием клинических форм. По данным ВОЗ, урогенитальным хламидиозом ежегодно заболевают около 90 млн человек. Около 15 % условно здоровых мужчин и женщин колонизированы микоплаз-

мой (*M. hominis*), 20–30 % — уреоплазмой (*U. urealyticum*) [1, 2]. Несмотря на различные биологические свойства этих возбудителей, все они вызывают сходные заболевания мочеполового канала.

По мнению В.И. Козловой и А.Ф. Пухнер [3], для них характерны:

- склонность к длительному хроническому течению, часто латентному;
- отсутствие стойкого иммунитета;
- длительное носительство;
- рецидивирующий характер заболевания;
- многосимптомность;
- атипичные или бессимптомно протекающие формы;
- тенденции к распространению инфекции;
- схожесть и тяжесть осложнений;
- возможность трансплацентарной передачи этих инфекций плоду и новорожденному.

### Биологические особенности хламидий

Хламидии — облигатные внутриклеточные энергетически зависимые паразиты, обладающие дискретной оболочкой (клеточной стенкой), сходной с имеющейся у грамотрицательных бактерий. Они не являются представителями нормальной микрофлоры человека. Обнаружение хламидий указывает, как правило, на инфекционный процесс, а отсутствие клинических симптомов заболевания следует рассматривать как временное равновесие между паразитом и хозяином [6].

Хламидии (*Chlamydia trachomatis*) имеют уникальный цикл развития, проявляя тропизм к

клеткам цилиндрического эпителия. Особенностью жизненного цикла хламидий является двухстадийность: инфекционной и вегетативной стадий существования. Полиморфизм хламидий заключается в наличии элементарных телец (инфекционных), которые, главным образом, инфицируют клетки цилиндрического эпителия, после чего реструктурируются с образованием метаболически активных ретикулярных телец и, пройдя стадию промежуточных форм, замещаются элементарными тельцами. Освободившись, элементарные тельца и находящиеся внутриклеточно через 48–72 ч снова проникают в новые клетки хозяина, начинается новый цикл развития хламидий. В случае возникновения неблагоприятных метаболических условий этот процесс может затянуться.

#### Биологические особенности микоплазм

Микоплазмы — различные по форме бактериальные клетки (мелкие шары, короткие нити), лишенные клеточной стенки, имеющие небольшие размеры (125–250 нм), способные прикрепляться к разным клеткам (эпителий, лейкоциты, сперматозоиды) за счет сходства строения их клеточной мембраны с мембранами клеток организма-хозяина. Взаимодействие микоплазм и клеток хозяина обусловлено их адсорбцией на поверхности клеток и внедрением мембранных и других компонентов микоплазм в клетку макроорганизма. Микоплазмы относятся к семейству *Mycoplasmatacea* класса *Mollicutes*. По современным представлениям, это семейство содержит два рода: *Mycoplasma*, включающий около 100 видов, и *Ureaplasma* — 3 вида. Основным таксономическим признаком уреоплазм является их способность гидролизировать мочевины [5].

Наибольшее патогенетическое значение для инфекций мочеполового канала имеют следующие виды микоплазм: *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* и *Ureaplasma urealyticum* [4].

*Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* могут проявлять патогенные свойства на фоне дисбаланса нормальной микрофлоры и постоянного или временного иммунодефицита. Они способны вызывать у людей развитие острого или хронического уретритов, простатитов, вульвовагинитов, цервицитов, внутриутробное инфицирование плода и другие патологические процессы. При этом нередко наблюдается длительная персистенция инфекционного процесса.

Многие исследователи отмечают многообразие клинической картины у пациентов, инфицированных микоплазмами, и сложность дифференциальной диагностики мико(уреа)плаз-

моза от аналогичных патологических процессов другой этиологии. Микоплазмонительство далеко не всегда сопровождается патологическим процессом, развитие которого может зависеть от других патогенов (сочетанные инфекции), локализации и количества возбудителя, состояния иммунной системы и других органов и систем пациента. Особый интерес вызывает *Mycoplasma genitalium* — патогенный микроорганизм, способный вызывать уретрит у лиц обоего пола, цервицит [7].

Для диагностики хламидиоза и мико(уреа)плазмоза используют различные методы. «Золотым стандартом» для выявления этих инфекций является культуральный метод, достаточно часто применяют также методы прямой и непрямой иммунофлюоресценции.

Полученные к настоящему времени сведения об организации геномов различных возбудителей, передающихся половым путем, изучение генетического полиморфизма, идентификация специфических и уникальных для разных микроорганизмов участков генома позволили использовать генетический материал в качестве мишени для детекции возбудителей инфекций, в том числе передаваемых половым путем. Из методов генодиагностики широко применяют амплификацию нуклеиновых кислот, или полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

Цель работы — определить количество случаев сочетанности хламидийно-мико(уреа)плазменных инфекций у пациентов с нарушением репродуктивной функции и воспалительными заболеваниями мочеполовой системы с использованием метода ПЦР.

#### Материалы и методы

Комплексное обследование на наличие хламидийно-мико(уреа)плазменной инфекции проведено у 254 пациентов (126 мужчин и 128 женщин) с нарушением репродуктивной функции и воспалительными процессами мочеполового канала. Возраст больных — от 20 до 35 лет. Исследования проводили в отделении ДНК-технологии лаборатории Александровской клинической больницы Киева. Забор материала у пациентов производили: у мужчин из мочеиспускательного канала и предстательной железы, у женщин — из мочеиспускательного канала, вагины и цервикального канала. Для исследования использован метод амплификации нуклеиновых кислот, или метод ПЦР с использованием тест-систем Ампли Сенс, разработанных ЦНИИ эпидемиологии МЗ РФ. Анализ продуктов амплификации выполняли с помощью электрофореза в агарозном геле.

## Результаты и обсуждение

По данным молекулярно-генетического исследования (ПЦР), в пробах материала, взятого у 254 пациентов, ДНК *Chlamydia trachomatis* была выявлена у 27 (10,6 %) пациентов, ДНК *Mycoplasma hominis* — у 79 (31,1 %), ДНК *Mycoplasma genitalium* — у 23 (9 %) пациентов и ДНК *Ureaplasma urealiticum* — у 162 (63,7 %).

Одна инфекция обнаружена у 76 (29,9 %) больных, микст-инфекции — у 178 (70 %). В большинстве случаев диагностированы уреа(мико)-плазменные инфекции — 115 (64,6 %) положительных результатов: *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealiticum* — 53,9 %; *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma genitalium* — 11,7 %; *Ureaplasma urealiticum* и *Mycoplasma genitalium* — 3,9 %; *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* и *Ureaplasma urealiticum* — 6,7 %. Сочетание хламидий, мико(уреа)плазм обнаружили у 42 (23,5 %) пациентов: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealiticum* составили 5 %; *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma hominis* — 5,6 %; *Chlamydia trachomatis* и *Ureaplasma urealiticum* — 12,9 %. Сочетание двух видов возбудителей урогенитальных инфекций выявлено у 157 (88,2 %) пациентов, а трех видов возбудителей — у 21 (11,7 %).

## Выводы

Применение диагностического метода амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР) при лабораторном обследовании пациентов с воспалитель-

ными процессами мочевого канала позволяет быстро выявлять ряд этиологически значимых патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Лабораторные исследования (метод ПЦР) свидетельствуют, что в 64,6 % случаев воспалительных заболеваний мочевого канала диагностированы условно-патогенные микроорганизмы (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealiticum*), а в 35,4 % — сочетание этих условно-патогенных микроорганизмов с абсолютными патогенами (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*). У 23,3 % обследованных методом ПЦР обнаружена *Mycoplasma genitalium*. Среди возбудителей урогенитального микоплазмоза этот вид микоплазм имеет наиболее сильный патогенный потенциал и влияет на развитие бесплодия, особенно у мужчин.

Анализ результатов лабораторных исследований методом амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР) с целью выявления возбудителей урогенитальных инфекций свидетельствует о его достаточно высокой чувствительности и специфичности. ПЦР на современном этапе является единственным диагностическим методом который позволяет диагностировать *M. genitalium*. Учитывая высокий патогенный потенциал этого вида микоплазм, применение ПЦР при лабораторном обследовании пациентов с воспалительными процессами мочевого канала является важным для своевременной диагностики этого возбудителя и проведения рациональной специфической терапии.

## Список литературы

1. Владимиров Н.Н., Петров С.С., Третьякова А.Н., Владимирова Е.Л. Клинико-лабораторная диагностика половых инфекций // Дерматология та венерологія.— 2007.— № 1.— С. 59—60.
2. Дмитриев Г.А., Глазко И.И. Диагностика инфекций, передаваемых половым путем.— М.: Бином, 2007.— 320 с.
3. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные заболевания гениталий: Руководство для врача.— М.: Авицена, Юнити, 1995.— 317 с.
4. Мавров И.И. Половые болезни: Руководство для врачей, студентов и интернов.— Х.: Факт, 2003.— 784 с.
5. Новиков А.И., Кононов А.В., Ваганова И.Г. Инфекции, передаваемые половым путем, и эндоцервикс.— М.: Медицина, 2002.— 176 с.
6. Стрельников А.П., Гольцов С.В., Бушин Е.В., Ермакова А.В. Хламидийная инфекция урогенитального тракта: Учебное пособие для студентов медвузов.— М.: Медицинская книга, 2005.— 152 с.
7. Schwartz M.A., Hooton T.M. Etiology of nongonococcal non-chlamydial urethritis // Dermatol. Clinic.— 1998.— N 16.— P. 727—733.

О.П. Шевченко, О.Ю. Мацас, О.І. Мулькіна, О.М. Слободянюк

## Метод ампліфікації нуклеїнових кислот у лабораторній діагностиці урогенітальних микст-інфекцій

Наведено дані лабораторної діагностики збудників урогенітальних інфекцій методом ампліфікації нуклеїнових кислот у пацієнтів із запальними процесами сечостатевого каналу. Доведено потребу комплексного лабораторного обстеження на наявність умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів з використанням методу ампліфікації нуклеїнових кислот (полімеразна ланцюгова реакція).

E.P. Shevchenko, E.Y. Matsas, E.I. Moulkina, O.N. Slobodianiuk

## An amplification of nucleic acids method in laboratory diagnostics of urogenital mixed infections

Data of the laboratory diagnostics of causative agents of urogenital infections by nucleic acids amplification method among patients suffering from inflammation of the urogenital tract is presented in the article. It proves the necessity of comprehensive laboratory examination of appropriate patients in the presence of both opportunistic and pathogenic microorganisms involving the method of nucleic acids amplification (polymerase chain reaction).