

УДК 618.3-06:618.1-022:579.882]-07

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЯМЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ УРЕАПЛАЗМОЗА У БЕРЕМЕННЫХ

Т.А. Мельникова<sup>1\*</sup>, Э.С. Горовиц<sup>2</sup>, М.М. Падруль<sup>2</sup>, Г.И. Работникова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Городская детская клиническая поликлиника № 1, г. Пермь,

<sup>2</sup>Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера,

<sup>3</sup>Городской консультативно-диагностический центр МСЧ № 9 им. М.А. Тверье, г. Пермь, Россия

## COMPARATIVE ASSESSMENT OF EFFICIENCY OF “DIRECT” METHODS FOR UREAPLASMOSIS DIAGNOSIS IN PREGNANT WOMEN

T.A. Melnikova<sup>1\*</sup>, E.S. Gorovits<sup>2</sup>, M.M. Padruľ, G.I. Rabotnikova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>City Children's Clinical Polyclinic № 1, Perm,

<sup>2</sup>Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University,

<sup>3</sup>City Consulting and Diagnostic Centre of Hospital № 9 named after M.A. Tverie, Perm, Russian Federation

**Цель.** Сравнительная оценка диагностической значимости ряда прямых методов диагностики уреаплазмоза у беременных.

**Материалы и методы.** С использованием варианта полимеразной цепной реакции и прямой иммунофлуоресценции обследовано 112 беременных, по данным бакпосева инфицированных *Ur. urealyticum*, в том числе 53 женщины с уровнем колонизации менее 10<sup>4</sup> КОЕ/мл и 59 – с титром более 10<sup>4</sup> КОЕ/мл. Группу сравнения составили практически здоровые беременные с отрицательными результатами бактериологического обследования на уреаплазмоз.

**Результаты.** У всех инфицированных уреаплазмами беременных в исследуемом материале обнаружены фрагменты ДНК возбудителя. У 86,44 % из них с высоким титром уреаплазм по данным бактериологии регистрировали ДНК констатировали у 43,4 % обследованных с титром уреаплазм по данным бакобследования ниже этиологически значимых. Прямая иммунофлюоресценция отличалась низкой результативностью.

**Выводы.** Для лабораторной диагностики уреаплазмоза у беременных необходимо сочетать использование бактериологического метода и ПЦР, это позволит более эффективно диагностировать уреаплазмоз.

**Ключевые слова.** Уреаплазмоз, беременность, лабораторная диагностика.

**Aim.** To compare the diagnostic value of some “direct” methods for diagnosis of ureaplasmosis in pregnant women.

**Materials and methods.** The variant of polymerase chain reaction and direct immunofluorescence were used to examine 112 *Ur. urealyticum*-infected pregnant women, including 53 women with the level of colonization < 10<sup>4</sup> CFU/ml and 59 women with the titer > 10<sup>4</sup> CFU/ml. The group of comparison consisted of practically healthy women with negative results of bacteriological investigation for ureaplasmosis.

**Results.** In the studied material of all ureaplasma-infected (by bacteriological test data) pregnant women, DNA fragments of the pathogen were detected; in 86,44 % of women with a high ureaplasma titer (by

© Мельникова Т.А., Горовиц Э.С., Падруль М.М., Работникова Г.И., 2017

тел. +7 (342) 258 49 41

e-mail: melnikova.ta1111@mail.ru

[Мельникова Т.А. (\*контактное лицо) – врач-дерматовенеролог; Горовиц Э.С. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом КЛД; Падруль М.М. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии; Работникова Г.И. – кандидат медицинских наук, врач акушер-гинеколог].

bacteriological test data), DNA of the pathogen in the concentration of  $5,0 \cdot 10^4$  DNAcopies/ml and more was registered. The same high concentrations of DNA were stated in 43,4 % of the examined women with ureaplasma titer (by bacteriological test data) lower than etiologically significant values. Direct immunofluorescence was less effective.

**Conclusions.** For laboratory diagnosis of pregnant ureaplasmosis, it is necessary to combine bacteriological method with PCR that permits to diagnose ureaplasmosis more effectively.

**Key words.** Ureaplasmosis, pregnancy, laboratory diagnosis.

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на наличие убедительных данных о причастности уреамикоплазм к развитию патологических процессов, вопрос об их этиологической значимости по-прежнему дискутируется [1, 4]. Это объясняется их широким распространением в популяции, несовершенством методов лабораторной диагностики, сложностью трактовки их результатов, а также дифференциации клинических проявлений от патологических заболеваний иной этиологии и частым выявлением сочетанных форм [1, 2, 4].

Три вида *M. genitalium*, *M. hominis* и *Ur. urealyticum* принято считать генитальными патогенами, причем два последних могут быть причиной как заболеваний репродуктивного тракта, так и инфекций у новорожденных [1, 4]. Так, А.А. Кубанова и соавт. отмечает, что *M. genitalium* способны вызывать уретрит, цервицит, воспалительные заболевания органов малого таза и патологию беременности [1, 5, 7].

Ранее для диагностики уреамикоплазмоза традиционно использовали метод прямой иммунофлюоресценции (ПИФ), основанный на выявлении антигенов *M. hominis* или *Ur. urealyticum* [3, 4, 6, 7]. В настоящее время с этой целью, как правило, применяют бактериологическое (культуральное) исследование с определением количества выделенных уреамикоплазм. Такой подход расширяет диагностические возможности метода. Наряду с этим для диагностики данной патологии в последние годы все чаще применяют поли-

меразную цепную реакцию (ПЦР), которую принято считать наиболее чувствительным и специфичным тестом [2, 3, 5–7].

*Цель исследования* – сравнительная оценка диагностической значимости ряда прямых методов диагностики уреаплазмоза у беременных.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено комплексное лабораторное обследование с целью выявления уреаплазмоза с использованием ПЦР и прямой иммунофлюоресценции 112 беременных, инфицированных *Ur. urealyticum* по данным бактериологического анализа. В зависимости от степени колонизации гениталий уреаплазмами женщины были разделены на две группы – первая (53 человека) с титром *Ur. urealyticum* менее  $10^4$  КОЕ/мл, вторая (59 человек) – с концентрацией  $10^4$  КОЕ/мл и более. Группу сравнения (третью) составили 40 практически здоровых беременных с отрицательными результатами бактериологического обследования на уреаплазмоз.

ПЦР проводили в режиме реального времени, выполняя количественный и качественный варианты, используя соответствующий набор реагентов серии МУЛЬТИП-РАЙМ фирмы «ИнтерЛабСервис». ПЦР проводили традиционным методом в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя, амплификацию осуществляли с помощью термоциклера Rotor-Gene 3000 (Австрия).

Индикацию антигенов *Ur. urealyticum* в скобном материале из влагалища проводили методом ПИФ с соответствующим конъюгантом, для чего использовали специальные стекла с лунками фирмы-изготовителя ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. После нанесения исследуемого материала препараты высушивали, фиксировали холодным ацетоном. В качестве конъюгантов использовали специфические моноклональные антитела, меченные изотиоцианатом флуоресцеина. Результаты оценивали с помощью люминесцентного микроскопа марки «ЛЮОМАН», увеличение  $\times 900$ . Степень специфического свечения оценивали по общепринятой четырехкрестной шкале. Положительным считали уровень свечения не менее чем на «три креста».

Для статистической обработки использовали компьютерную программу Statistica 6,0. Для оценки достоверности величин применяли *t*-критерий Стьюдента, статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех обследованных беременных, инфицированных уреоплазмами, независимо от степени колонизации гениталий, были обнаружены фрагменты генома *Ur. urealyticum* (табл. 1).

Таблица 1

### Результаты использования полимеразной цепной реакции при обследовании беременных, инфицированных *Ur. urealyticum*

Группа обследованных	Количество положительных результатов, концентрация ДНК-копий/мл				<i>p</i>
	От $1,0 \cdot 10^2$ до $4,0 \cdot 10^4$		От $5,0 \cdot 10^4$ до $6,0 \cdot 10^6$		
	абс.	%	абс.	%	
1 ( $n = 53$ )	30	56,6	23	43,4	$> 0,05$
2 ( $n = 59$ )	8	13,56	51	86,44	$< 0,01$
3 ( $n = 40$ )	3	7,5	0	0	

Из приведенных данных следует, что у беременных первой группы, у которых по результатам бакпосева количество *Ur. urealyticum* в исследуемом материале составляло менее  $10^4$  КОЕ/мл, с помощью ПЦР чаще (56,6 %) обнаруживали ДНК *Ur. urealyticum* в концентрации менее  $10^4$  ДНК-копий/мл. Однако эти различия не были статистически значимы.

Стоит отметить значительное количество женщин этой группы (43,4 %), у которых в вагинальном секрете констатировали титр возбудителя более чем  $10^4$  ДНК-копий/мл.

Как и можно было ожидать, во второй группе беременных с колонизацией гениталий *Ur. urealyticum*, по данным бактериологического исследования, более  $10^4$  КОЕ/мл в подавляющем большинстве случаев по результатам ПЦР подтверждалась высокая степень инфицированности уреоплазмами. И только у 8 женщин этой группы (13,65 %) концентрация *Ur. urealyticum* колебалась в пределах от  $1,0 \cdot 10^2$  до  $4,0 \cdot 10^4$  ДНК-копий/мл. Следовательно, результаты бактериологического обследования беременных с колонизацией гениталий *Ur. urealyticum* в высоких титрах (более  $10^4$  КОЕ/мл), как правило, соответствовали данным ПЦР.

В то же время более чем у 40 % женщин с низкой (незначительной) степенью колонизации гениталий *Ur. urealyticum*, по данным бактериологического обследования, регистрировали ДНК возбудителя в этиологически значимых концентрациях. Таким образом, если ориентироваться только на результаты бактериологической диагностики, то в ряде случаев можно пропустить уреоплазменную инфекцию, а значит и не назначить необходимую терапию.

Иные закономерности были выявлены при использовании ПИФ для обследования инфицированных уреоплазмами беременных (табл. 2).

Таблица 2

**Результаты использования ПИФ  
для обследования беременных,  
инфицированных *Ur. urealyticum***

Группа обследованных	Количество положительных результатов	
	абс.	%
1 ( <i>n</i> = 53)	10*	8,9
2 ( <i>n</i> = 59)	11*	9,8
3 ( <i>n</i> = 40)	0	0
Всего	21	18,7

Примечание: \* – различия между группами недостоверны ( $p > 0,05$ ).

Как следует из приведенных данных, у женщин групп 1 и 2 практически с одинаковой частотой в исследуемом материале выявляли антигены *Ur. urealyticum*. Следовательно, информативность ПИФ, по существу, не зависела от уровня колонизации гениталий уреоплазмами. При этом положительные результаты были получены только в 18,7 % случаев. У этих же беременных были выявлены фрагменты генома возбудителя. Таким образом, чувствительность ПИФ значительно уступала как ПЦР-диагностике, так и бактериологическому обследованию.

### Выводы

1. Сравнительный анализ эффективности ряда прямых методов диагностики уреоплазмоза у беременных показал, что количественный вариант ПЦР по результативности превосходит бактериологический и особенно иммунофлюоресцентный методы исследования.

2. Сочетание использования количественного варианта ПЦР и бактериологического метода позволяет повысить эффективность лабораторной диагностики уреоплазменной инфекции у беременных.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Базина М.И.* Беременность и роды при внутриутробных инфекциях: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Омск. 2000; 21.

2. *Гуцин А.Е., Рыжих П.Г., Хайруллина Г.А.* Алгоритм лабораторного обследования пациентов на наличие инфекций, вызванных *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, методами полимеразной цепной реакции и транскрипционной амплификации. Клиническая дерматология и венерология 2015; 2: 74–81.

3. *Зильберберг Н.В., Евстигнеева Н.П., Кузнецова Ю.Н.* Разработка подходов к диагностике урогенитальных инфекций вирусной и бактериальной этиологии. Приоритетные направления развития дерматологической помощи: материалы конференции, 10–11 апреля 2014 г. Екатеринбург; 42–47.

4. *Кудрина М.И., Колмогорова И.В.* Аспекты лабораторной диагностики урогенитального микоплазмоза. Вестник дерматологии и венерологии 2004; 6: 13–16.

5. *Povlsen K., Thorsen P., Lin L.* Relationship of *Ureaplasma urealyticum* biovars to the presence or absence of bacterial vaginosis in pregnant women and to the time of delivery. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20: 65–67.

6. *Markenson G.R.* Prevalence of *Mycoplasma bacteria* in amniotic fluid at the time of genetic amniocentesis using the polymerase chain reaction. J Reprod Med 2003; 10: 775–779.

7. *Taylor-Robinson D.* *Mycoplasma genitalium* – making its presence felt. Сотрудничество во благо: материалы I Сибирского съезда акушеров-гинекологов, дерматовенерологов и урологов с междунар. участием. Новосибирск 2007; 3–4.

Материал поступил в редакцию 24.04.2017