

УДК 618.1-002.72-055.25-07

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ УРОГЕНИТАЛЬНОГО МИКОПЛАЗМОЗА У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ

Захаренкова Т. Н., Барановская Е. И., Голубых Н. М.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Республика Беларусь

Учреждение образования

«Белорусский государственный медицинский университет»
г. Минск, Республика Беларусь

Введение

Вопросы о роли микоплазм в патологии урогенитального тракта вызывают многочисленные споры среди ученых разных специальностей уже более 20 лет. Колонизация новорожденных генитальными микоплазмами происходит во время беременности и при прохождении через родовые пути. В дальнейшем наблюдается усиление их колонизации на фоне гормональных изменений в период полового созревания. Являясь условными патогенами *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* способны при определенных условиях, реализовать свои патогенные свойства и вызывать воспалительные заболевания мочеполовой системы. Заболевания, ассоциированные с урогенитальными микоплазмами, не имеют специфических клинических проявлений, в большинстве случаев протекают скрыто бессимптомно, с тенденцией к хронизации воспаления. Отсутствие своевременного этиологического лечения в детском возрасте приводит в дальнейшем к выраженным нарушениям репродуктивной функции. Для адекватного лечения урогенитальной инфекции необходима четкая этиологическая диагностика.

Цель

Установить наиболее информативные приоритетные методы диагностики урогенитального микоплазмоза у девочек-подростков до начала половой жизни.

Методы исследования

На базе ЦНИЛ ГомГМУ педиатрического и кардиоревматологического отделений УЗ «Гомельская областная клиническая детская больница» проведено клинико-лабораторное обследование 70 девочек-подростков до начала половой жизни в возрасте от 12 до 18 лет. Наличие микоплазм в урогенитальном тракте определяли культуральным методом с помощью набора *Mycoplasma* IST 2 (bioMerieux SA, Франция), методом ПЦР в режиме реального времени с использованием наборов реагентов «АмплиСенс *M.genitalium*-скрин-титр-FL» и «АмплиСенс ФлороЦеноз/Микоплазмы- FL» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ). Методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови определяли специфических антител IgA и IgG к *M. hominis* и *U.urealyticum* с использованием тест-систем *Mycoplasma hominis*-IgA-ИФА-БЕСТ, *Mycoplasma hominis*-IgG-ИФА-БЕСТ, *Ureaplasma urealyticum*-IgA-ИФА-БЕСТ, *Ureaplasma urealyticum*-IgG-ИФА-БЕСТ (ЗАО «Вектор-БЕСТ», Россия). Для статистической обработки количественных данных применялись методы вариационной статистики Фишера-Стьюдента с определением доли (р, %) изучаемого признака и стандартной ошибки доли (sp, %). Для установления значимости различий частот наблюдений при межгрупповом сравнении по долям рассчитаны критерии χ^2 и Фишера (односторонний вариант). Статистическая обработка данных производилась при помощи программы «Statistika» 6.0. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Так как урогенитальные микоплазмы внутриклеточные микроорганизмы, обладающие тропизмом к цилиндрическому эпителию урогенитального тракта, а в нашем

исследовании у девочек-подростков до начала половой жизни отсутствует возможность получения материала из цервикального канала шейки матки, основным биоматериалом для выделения микоплазм явились: моча, соскоб/мазок из уретры.

При исследовании у 70 девочек-подростков соскоба из уретры культуральным методом *U. spp.* (объединены биовары *U. urealyticum* и *U. parvum*) была выявлена у 18 (25,7 ± 5,2 %) человек, у 17 (94,4 %) из них в диагностически значимых титрах ($\geq 10^4$ КОЕ в образце), и у 1 (5,6 %) девочки — в титре $< 10^4$ КОЕ в образце.

M. hominis культуральным методом выделена у 5 (7,1 ± 3,1 %) из 70 человек, из них в титре $\geq 10^4$ КОЕ — у 1 (20 %) девочки, в титре $< 10^4$ КОЕ в образце — у 4 (80 %). Таким образом, у девочек-подростков при культуральном исследовании соскобного отделяемого слизистой уретры статистически значимо чаще выявляются *U. spp.*, чем *M. hominis* (OR 4,5, 95 %CI 1,6-12,9; P = 0,005), причем значимо чаще в диагностически значимом титре ($\chi^2 = 8,7$, P = 0,003). При всех выделениях *M. hominis* наблюдалась ее ассоциация с уреаплазмами.

При культуральном исследовании определена чувствительность выявленных у девочек-подростков штаммов микоплазм к антибиотикам. В 77,8 % случаев микоуреаплазмы были устойчивы к ципрофлоксацину, а при использовании офлоксацина для остановки роста в 83,3 % случаев понадобились максимальные концентрации антибиотика (4 мг/л против 1 мг/л, отвечающего параметру чувствительности). Невысокая эффективность отмечена и для эритромицина и азитромицина, чувствительность к которым микоуреаплазм составила по 55,6 %, что может быть связано с частым неадекватным использованием этих антибиотиков у детей. Не была выявлена устойчивость микоуреаплазм к доксициклину и джозамицину.

При исследовании методом ПЦР-РВ у 70 девочек-подростков уретральных соскобов и у 63 из них — образцов мочи наличие урогенитальных микоплазм диагностировано у 19 (27,1 ± 5,3 %) из 70. Сравнение результатов обследования на микоплазмы методом ПЦР и культуральным методом представлено в таблице 1.

Таблица 1 — Сравнение результатов обследования девочек-подростков на урогенитальные микоплазмы культуральным методом и методом ПЦР (n = 70)

Микро-организм	Совпадение результата культурального метода и ПЦР			Несовпадение результата культурального метода и ПЦР		
	посев «+» ПЦР «+»	посев «-» ПЦР «-»	итого % совпадения	посев «-» ПЦР «+»	посев «+» ПЦР «-»	итого % несовпадения
<i>U. spp.</i>	16 (22,9 %)	49 (70 %)	92,9 %	4 (5,7 %)	1 (1,4 %)	7,1 %
<i>M. hominis</i>	1 (1,4 %)	62 (88,6 %)	90 %	3 (4,3 %)	4 (5,7 %)	10 %

Общее совпадение результатов при исследовании на *U. spp.* составляет $92,9 \pm 3,1$ %. В исследованиях на наличие уреаплазменной инфекции в $70 \pm 5,5$ % случаев наблюдается совпадение отрицательных результатов ПЦР и посевов (посев «-», ПЦР «-»), в $22,9 \pm 5,0$ % случаев имеется совпадение положительных результатов (посев «+», ПЦР «+»).

Несовпадение результатов молекулярно-генетических и микробиологических методов отмечалось в $7,1 \pm 3,1$ % случаев и приходилось на 1 случай вариант посев «+», ПЦР «-» и 4 случая посев «-», ПЦР «+».

Во всех случаях результата посев «-», ПЦР «+» при обследовании на *U. spp.* ДНК уреаплазм (3 случая *U. parvum* и 1 случай *U. urealyticum*) была выделена из образцов мочи, в то время, как исследование уретрального соскоба и культуральным и методом ПЦР-РВ дало отрицательный результат. Несовпадение при обследовании на *U. spp.*, когда в посевах был выявлен низкий титр микроорганизма $< 10^4$ КОЕ в образце, отрицательный результат ПЦР мог быть обусловлен недостаточным количеством материала в соскобе на ПЦР.

При сравнении результатов различных методов выявления *M. hominis* совпадение отрицательных результатов культурального метода и ПЦР составили $88,6 \pm 3,8 \%$ и только $1,4 \pm 1,4 \%$ — при положительных результатах. Ввиду того, что этот вид микоплазм достаточно редко встречался у девочек, общий процент совпадений велик и составил $90 \pm 3,6 \%$. Несовпадение имеет место как в случаях отсутствия роста на средах и положительных в ПЦР ($4,3 \pm 2,4 \%$), что может быть при отсутствии жизнеспособных бактерий в соскобе, так и наоборот, ПЦР «←», посев «+» ($5,7 \pm 2,8 \%$). В последних 4 случаях *M. hominis* наблюдалась в ассоциации с *U. spp.* причем только в одном из 4 случаев в значимом титре $\geq 10^4$ КОЕ в образце.

Методом ПЦР-РВ проведен анализ видовой принадлежности выделенных уреоплазм и определена нормированная концентрация ДНК (число гено-эквивалентов на 100 тыс. клеток эпителия), что не представлялось возможности при культуральном исследовании (таблица 2).

Таблица 2 — Нормированная концентрация ДНК различных видов микоплазм, выявленных в урогенитальном тракте девочек-подростков, Me (25,75 %), lg ГЭ/10⁵ клеток

Биологический материал	<i>U. parvum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>M. hominis</i>	3 вида микоплазм
Уретральный соскоб	n = 16 4,1 (3,8; 4,5)	n = 1 4,4	n = 3 3,0 (2,0; 4,5)	n = 20 4,1 (3,5; 4,5)
Моча	n = 15, 4,8 (4,4; 5,5)* Z = 2,63; P = 0,009	n = 2 5,2 (5,1; 5,3)	n = 3 5,5 (4,3; 6,6)	n = 20, 5,0 (4,5; 5,5)* Z = 3,18; P = 0,002

* Статистически значимо больше концентрация, чем в уретральном соскобе (P < 0,05).

При обследовании 62 девочек-подростков методом ИФА в сыворотке крови 37 девочек ($59,7 \pm 6,2 \%$) выявлены антитела против *M. hominis* и *U. urealyticum*. Иммуноглобулины класса А к *U. urealyticum* не были обнаружены ни у одной пациентки. Выявленные варианты сочетания иммунологических маркеров у девочек-подростков представлены на рисунке 1.

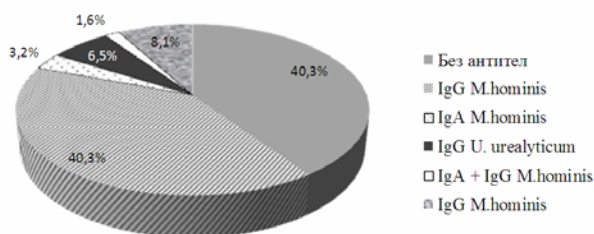


Рисунок 1 — Частота выявления и варианты сочетания антител против *M. hominis* и *U. urealyticum*

У 25 из 37 ($67,6 \pm 7,7 \%$) девочек наблюдались только IgG к *M. hominis* в титре 1:5–1:20, что было значимо чаще, чем остальные варианты сочетания антител (P₁ < 0,001, P₂ = 0,003 и P₃ = 0,008).

Для определения специфичности и чувствительности метода ИФА в диагностике урогенитального микоплазмоза проведено сравнения результатов ИФА и сочетанных данных культурального метода выделения микоплазм и ПЦР (таблица 3).

Таблица 3 — Вычисление чувствительности и специфичности ИФА при диагностике *M. hominis*

	Есть рост и(или) выявлена ДНК микоплазм (положительный) (N=21)	Нет роста и ДНК микоплазм (отрицательный) (N=42)
Выявлены специфические антитела (положительный)	4	28
Отсутствуют антитела (отрицательный)	2	26

Определить специфический иммунитет против наиболее часто встречающегося вида *U. parvum* не представляется возможным, так как отсутствуют ИФА тест-системы. В двух случаях выделения *U. urealyticum* специфические антитела выявлены не были. Проведен анализ чувствительности и специфичности ИФА метода для диагностики *M. hominis*.

$$\text{Чувствительность} = \frac{4}{4+2} = 0,67 \text{ (67\%)}$$

$$\text{Специфичность} = \frac{26}{28+26} = 0,48 \text{ (48\%)}$$

Таким образом, метод ИФА в диагностике урогенитального микоплазмоза, обусловленного *M. hominis* у девочек-подростков обладает низкой чувствительностью и низкой специфичностью.

Выводы

1. Наиболее адекватными лабораторными методами идентификации и количественного выявления различных видов микоуреаплазм у девочек подростков до начала половой жизни являются: культуральный, при котором *U. spp.* определяется у $25,7 \pm 5,2$ %, *M. hominis* — у $7,1 \pm 3,1$ % и ПЦР в реальном времени, при котором у $27,1 \pm 5,3$ % девочек обнаружена ДНК микоплазм.

2. При сравнении результатов культурального метода и метода ПЦР-РВ для выявления урогенитальных микоплазм общее совпадение результатов составляет $90 \pm 3,6$ % для *M. hominis* и $92,9 \pm 3,1$ % — для *U. spp.*, при этом оба метода позволяют определить диагностически значимые титры микроорганизмов.

3. Преимуществами метода ПЦР-РВ является возможность идентификации разных биофармацевтиков уреаплазм и их точная нормированная концентрация в биологическом материале. Преимущества культурального метода: определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

4. Биологическим материалом, репрезентативным для выделения мико- и уреаплазм у девочек-подростков, является отделяемое уретры, моча (первая утренняя порция). Причем в моче наблюдаются более высокие концентрации ДНК микоуреаплазм.

5. У девочек-подростков до начала половой жизни методом ИФА в сыворотке крови определяются антитела против *M. hominis* и *U. urealyticum* в $59,7 \pm 6,2$ % случаев. Статистически значимо чаще выявляются IgG к *M. hominis* в титре 1:5–1:10, чем остальные варианты сочетания антител ($P_1 < 0,001$, $P_2 = 0,003$ и $P_3 = 0,008$). Данный метод обладает низкой чувствительностью (63,8 %) и низкой специфичностью (48 %) и не может быть рекомендован в диагностике урогенитального микоплазмоза у девочек-подростков.

УДК 581.1; 611.36

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ БЕРБЕРИНА НА ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНЫЙ СТАТУС КРОВИ И ПЕЧЕНИ КРЫС

Зверинский И. В., Зверинская Н. Г., Янкевич Н. В., Поплавский В. А.

**ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»
Гродненский филиал, г. Гродно, Республика Беларусь**

Введение

В настоящее время редокс-потенциал клетки рассматривается с позиции фармакологической «мишени», это связано с тем, что редокс-зависимые процессы в значительной степени влияют на функциональную активность многих белков, участвующих в таких клеточных процессах, как деление, дифференцировка и апоптоз. Особое внимание привлекает изучение тиол-дисульфидной регуляции [1]. В этой связи поиск эффективных клеточных регуляторов данных процессов является одним из перспективных направлений в разработке новых противоопухолевых препаратов [2].

Исходя из литературных данных и наших собственных исследований, в роли подобного регулятора может выступать изохинолиновый алкалоид берберин [3, 4].