

УДК 612.11:616.074/078:616.97:-(477)

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПРИОБРЕТЕННЫХ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ, НА ТЕРРИТОРИИ НИКОЛАЕВСКОЙ ОБЛАСТИ

Верко Н.П.¹, Литвиненко А.В.², Верба И.Н.², Шишко Е.Ю.³

¹*Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского, Украина*

²*Медицинский центр «VALEO», Николаев, Украина*

³*Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, Симферополь, Украина*

E-mail: veparo@rambler.ru

С помощью полимеразной цепной реакции проанализирована частота встречаемости инфекций, передающихся половым путем, в Николаевской области. Наиболее распространенными заболеваниями оказались уреаплазмоз, гарднереллез, генитальный герпес. Все обследуемые, независимо от тестируемой инфекции, относились к возрастной категории – 17-35 лет. Частота встречаемости различных инфекций зависит от пола и группы крови обследуемых.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция, заболевания, приобретенные половым путем.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время насчитывается более 20 заболеваний, приобретенных половым путем (ЗППП) [1]. Они характеризуются высокой контагиозностью и сравнительно быстрым распространением среди определенных групп населения. Несмотря на успехи, достигнутые в диагностике и терапии ЗППП, проблема их эффективной профилактики остается актуальной [2]. Велика роль ранней диагностики ЗППП для своевременного лечения, снижающего вероятность осложнений и дальнейшего распространения инфекции. Ведущим методом диагностики при этом является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), использование которого позволяет провести расширенную этиологическую расшифровку ЗППП и выбрать оптимальную тактику терапии [3,4]. Выбор метода ПЦР обусловлен рядом преимуществ, определяющими из которых являются высокая аналитическая чувствительность и диагностическая специфичность.

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение распространенности ЗППП на территории Николаевской области с помощью метода полимеразной цепной реакции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено у 8941 пациента, поступившего на обследование в медицинский центр «VALEO» г.Николаева в 2007-2009гг. Пациентами были лица мужского и женского пола с признаками воспалительного процесса

урогенитального тракта, обратившиеся в лабораторию медицинского центра для уточнения этиологии воспалительного процесса или оценки эффективности проводимого лечения. Материалом для исследования служили соскобы из эпителия уретры у мужчин, соскобы из уретры и цервикального канала у женщин, а также образцы крови, слюны, ликвора. Материал для исследования помещали в пробирки типа «эппендорф», который затем подвергали ПЦР-анализу. Для экстракции ДНК использовали комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ». Для ПЦР-амплификации ДНК исследуемых проб (*Ureplasma urealiticum*, *Mycoplasma genitalium*, *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, HSV (генитальный герпес), CMV (цитомегаловирус), *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*) и контрольных проб использовали пробирки с ПЦР-смесью (реакционная смесь). ПЦР-амплификацию проводили в автоматическом режиме на термоциклере «Терцик МС 202». Продукты ПЦР-амплификации анализировали путем гибридизационно-флуоресцентной детекции по «конечной точке» с помощью мультиканального роторного флуориметра «АЛА- ¼».

Полученные результаты были обработаны с использованием программ: АЛА 1 Setup.exe., Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты ПЦР-исследования распространенности ЗППП среди населения Николаевской области показали, что частота их встречаемости стойко удерживается в течение анализируемого периода времени. Так, в 2007-2009гг количество положительных результатов ПЦР-анализа по всем тестируемым нозологическим единицам составило 1/5 от общего количества анализируемых образцов (табл. 1).

Таблица 1

Частота встречаемости ЗППП в 2007-2009 гг

	Годы исследования		
	2007	2008	2009
Общее кол-во анализов (абс.)	3863	2848	2230
Удельный вес положительных ПЦР-анализов (абс.)	802	570	466
Удельный вес положительных ПЦР-анализов (%)	21 мужчины – 8 женщины - 13	20 мужчины – 5 женщины - 15	21 мужчины – 7 женщины - 14

Детальный анализ частоты встречаемости различных возбудителей в 2007-2009гг выявил следующие особенности. Первое место по частоте врачебных направлений занимали исследования по идентификации ДНК *Ureplasma urealiticum*

– 40%. В результате проведения ПЦР-анализа диагноз подтвердился у 25%. Второе место по обращаемости занимали ДНК-исследования на хламидиоз. Количество анализируемых клинических образцов составило 22% от общего количества ПЦР-анализов, а ДНК данного возбудителя выявлялось в 14%. Следующими в ряду врачебных направлений на подтверждение диагноза находились ПЦР-исследования на микоплазмоз – 11% от общего количества ПЦР-анализов. Частота выявления ДНК *Mycoplasma genitalium* сравнительно такая же, как для *Chlamidia trachomatis* – 13%. Анализ частоты встречаемости микоплазмы в анализируемых образцах показал, что количество положительных результатов ПЦР-анализа на данный возбудитель значительно снижалось в течение исследуемого периода: в 2 и 3 раза в 2008-2009гг по сравнению с 2007г. С помощью ПЦР-анализа трихомонадная ДНК выявлялась в 12% случаев. Частота встречаемости трихомонадной инфекции по годам несколько снижалась. Так, в 2007г процент положительных результатов ПЦР-анализа на данный вид инфекции составил 17%, в 2008-2009гг частота выявляемости трихомонады имела место в 8% и 10% случаев соответственно.

Несмотря на сравнительно небольшое количество врачебных направлений на генитальный герпес, цитомегаловирусную инфекцию, гарднереллез, кандидоз, количество положительных результатов ПЦР-анализа, подтверждающих диагноз, было достаточно высоким. Особенно это касается вирусных инфекций (генитальный герпес и цитомегаловирусная инфекция), удельный вес анализов для которых составил 22% и 19%. Не случайным также стал высокий процент идентификации ДНК *Gardnerella vaginalis* и *Candida albicans*, возбудителей гарднереллеза и кандидоза – 37% для *Gardnerella vaginalis* и 20% для *Candida albicans*. Эти микроорганизмы относятся к разряду условно-патогенных, в небольшом количестве входят в состав вагинальной микрофлоры. Однако в силу различных причин, например бактериальной инфекции, изменении рН в урогенитальном тракте или антибиотикотерапии, становятся следствием генитального дисбактериоза и провоцируют развитие бактериального вагиноза.

Результаты данной части ПЦР-исследования могут быть полезны для оценки эпидемиологической ситуации инфекционных заболеваний на территории Николаевской области. Как показали результаты, большинство врачебных направлений на ПЦР-исследования, в основном, были направлены на подтверждение диагноза хламидиоз, трихомониаз, уреплазмоз, микоплазмоз. Однако частота выявления ДНК хламидии, трихомонады, микоплазмы была невысокой. В какой-то степени это может быть обусловлено тем, что направление на обследование получали пациенты, прошедшие курс антибиотикотерапии (постановка ПЦР для контроля качества проведенного лечения). Напротив, случаи выявления вирусных инфекций, приобретенных половым путем, были количественно выше.

При анализе структуры заболеваемости по возрастному составу не было обнаружено особых различий. Все обследуемые, независимо от тестируемой инфекции, относились к возрастной категории – 17-35 лет. Средний возраст пациентов по разным нозологическим единицам составлял 25-28 лет.

Анализ данных лабораторных исследований по половому признаку показал, что наиболее высокий процент встречаемости инфекций, приобретенных половым путем, отмечался среди женщин. Чаще всего у женщин выявлялись бактериальные инфекции – хламидия (80-87% случаев), уреаплазма (64-82% случаев), трихомонада (84-95% случаев). Лидером по частоте выявляемости была бактерия *Gardnerella vaginalis*. Частота ее встречаемости среди женщин практически не изменялась за исследуемый период времени и имела самый высокий процент обнаружения – 91-94%. Важно отметить, что в частоте встречаемости этих инфекций в женской популяции наблюдалась тенденция к росту, особенно хламидийной и уреоплазменной инфекций. В 2007 г частота идентификации ДНК *Chlamidia trachomatis* составила 85%, тогда как в 2009 г этот показатель составил уже 87%. Для уреоплазменной инфекции частота встречаемости в 2007 г равнялась 69, но уже в 2009 г этот показатель достиг 82% положительных результатов ДНК-анализа. Высоким был также процент положительных результатов ПЦР-анализа на вирусные генитальные инфекции. Так, частота встречаемости генитального герпеса среди женщин в 2007-2009 гг составила 67-93%, цитомегаловирусной инфекции – 78-92%.

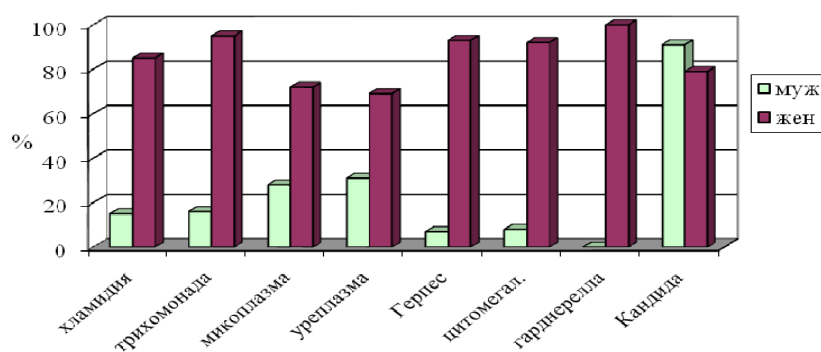


Рис. 1. Частота встречаемости ЗППП у мужчин и женщин в 2007 г.

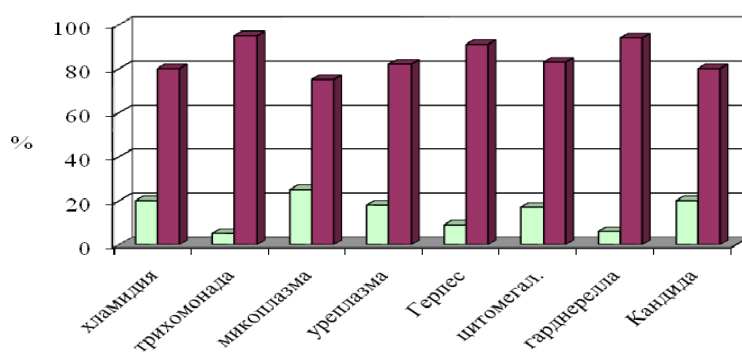


Рис. 2 Частота встречаемости ЗППП у мужчин и женщин в 2008 г.

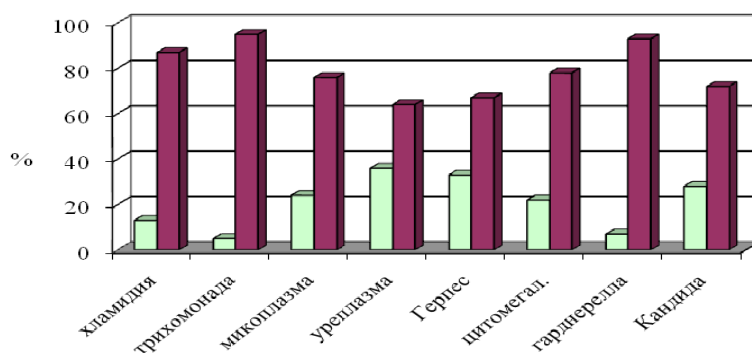


Рис. 3. Частота встречаемости ЗППП у мужчин и женщин в 2009г.

В сравнении с женщинами, частота встречаемости инфекций, приобретенных половым путем, у мужчин была ниже. Частота обнаружения ДНК различных возбудителей составляла от 5% до 36%. Если у женщин наблюдалась тенденция к возрастанию частоты встречаемости бактериальной инфекции, то для мужчин характерно увеличение частоты обнаружения ДНК вирусных инфекций. Так, генитальный герпес встречался у 7% мужчин в 2007 г, а в 2009 г – у 33%. Цитомегаловирусная инфекция в 2007 г по частоте встречаемости составила 8%, тогда как в 2009 г этот показатель достигнул 22%. Для мужчин было также характерно увеличение частоты встречаемости уреоплазменной инфекции. Если в 2007 г уреоплазменная инфекция зарегистрирована в 31% случаев, то в 2009г – в 64% случаев. Однако количество положительных результатов ПЦР-анализа на другую бактериальную инфекцию, *Trichomonas vaginalis*, напротив, снижалось с 16% в 2007 г до 5% в 2009 г.

Анализ частоты встречаемости заболеваний, приобретенных половым путем, в зависимости от группы крови (ABO) позволил выявить самый высокий процент положительных результатов ПЦР-анализа по всем тестируемым инфекциям среди носителей II (A) группы крови – 24-52% за период времени 2007-2009гг. Следующими в ряду встречаемости инфекций, приобретенных половым путем, являлись носители I (0) группы крови, у которых частота обнаружения ДНК различных инфекционных агентов колебалась от 19% до 35%. Небольшой процент по частоте инфицирования составляли пациенты с III (B) и IV (AB0) группами крови.

ВЫВОДЫ

1. Частота встречаемости инфекций, передающихся половым путем, в Николаевской области в 2007-2009гг составляет 1/5 от общего количества анализируемых образцов.
2. Наиболее распространенными заболеваниями, передающимися половым путем, на территории Николаевской области являются уреоплазмоз (частота встречаемости 25%), гарднереллез (37%), генитальный герпес (22%).

3. Все обследуемые, независимо от тестируемой инфекции, относятся к возрастной категории – 17-35 лет. Средний возраст пациентов по разным нозологическим единицам составляет 25-28 лет.
4. Наиболее высокий процент встречаемости инфекций, приобретенных половым путем, отмечается среди женщин. Чаще всего у женщин выявляются бактериальные инфекции – хламидия (80-87% случаев), уреаплазма (64-82% случаев), трихомонада (84-95% случаев).
5. Самый высокий процент положительных результатов ПЦР-анализа по всем тестируемым инфекциям наблюдается среди носителей II (A) (24-52%) и I (0) групп крови (19-35%).

Список литературы

1. Адаскевич В.П. Заболевания, передаваемые половым путем / Адаскевич В.П. – Витебск: Изд-во Витебского медицинского института, 1997. – 310с.
2. Аксенов М.Ю. Диагностика инфекционных заболеваний с помощью метода полимеразной цепной реакции / М.Ю. Аксенов, А.Л. Гинцбург // Молекулярная генетика, 1993. – №4, С. 3–8.
3. Значение ПЦР для диагностики урогенитальных инфекций в практическом здравоохранении / А.Г. Бойцов, А.А. Порин, Е.В. Белоусова [и др.] // Тез. Докл. 3-й Всерос. Научн.-практ. конф. «Генодиагностика в современной медицине». – Москва, 2000. – С. 22–23.
4. Карлина В.П. Частота выявления бактериальных возбудителей заболеваний мочеполовой системы методом ПЦР / В.П. Карлина, Г.И. Сторожук // Тез. Докл. 3-й Всерос. Научн.-практ. конф. «Генодиагностика в современной медицине». – Москва, 2000. – С. 29–30.

Верко Н.П. Застосування полімеразної ланцюгової реакції для оцінки поширеності захворювань, придбаних статевим шляхом, на території Миколаївської області / Н.П. Верко, А.В. Литвиненко, І.М. Верба, О.Ю. Шишко // Вчені записки Таврійського національного університету ім.В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2010. – Т. 23 (62), № 3. – С. 56-61.

За допомогою полімеразної ланцюгової реакції проаналізована частота зустрічальності інфекцій, що передаються статевим шляхом, у Миколаївській області. Найбільш поширеними захворюваннями виявилися уреаплазмоз, гарднерельоз, генітальний герпес. Всі обстежувані, незалежно від тестованої інфекції, ставилися до вікової категорії - 17-35 років. Частота зустрічальності різних інфекцій залежить від статі та групи крові обстежуваних.

Ключові слова: полімеразна ланцюгова реакція, захворювання, придбані статевим шляхом.

Verko N.P. Application of polymerase chain reaction to assess the prevalence of diseases, acquired infections in the Nikolayev region / N.P. Verko, A.V. Litvinenko, I.N. Verba, E.Y. Shishko // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – Vol. 23 (62), No 3. – P. 56-61.

Using polymerase chain reaction, analyzed the frequency of occurrence of infections, sexually transmitted infections in the Mykolaiv region. The most common diseases were ureplazmoz, gardnerellez, genital herpes. All of the subjects, regardless of the tested infections were in the age category - 17-35 years. The frequency of various infections depends on the sex and blood group surveyed.

Keywords: polymerase chain reaction, disease acquired through sexual contact.

Поступила в редакцію 02.10.2010 г.