

## Хламидиоз у женщин: сопоставление разных методов диагностики, факторы риска и клинические проявления

А.А. ХРЯНИН, О.В. РЕШЕТНИКОВ, Н.А. КРИВЕНЧУК, А.Е. ГУШИН, О.А. АЛАЕВА

### Chlamydia in women: comparison of different diagnostic tools, risk factors, and clinical features

A.A. KHRYANIN, O.V. RESHETNIKOV, N.A. KRIVENCHUK, A.E. GUSHCHIN, O.A. ALAEVA

Новосибирская государственная медицинская академия; Научно-исследовательский институт терапии СО РАМН, ЗАО «Иммунодиагностика». Новосибирск; Центр молекулярной диагностики Центрального НИИ эпидемиологии РФ, Москва

Для выявления *Chlamydia trachomatis* в эндоцервикальных образцах обследованы 100 студенток при помощи двух методов, использующих амплификацию нуклеиновых кислот (амплификации посредством транскрипции и полимеразной цепной реакции). Амплификация посредством транскрипции показала несколько большую чувствительность, чем полимеразная цепная реакция. Частота выявления генитальной хламидийной инфекции среди студенток Новосибирска составила 12%, что выше, чем соответствующий показатель в развитых странах. Факторами, ассоциированными с заражением *C. trachomatis*, оказались раннее начало половой жизни и большее число половых партнеров.

*Ключевые слова:* *Chlamydia trachomatis*, студентки, амплификация нуклеиновых кислот, амплификация посредством транскрипции, полимеразная цепная реакция.

Two nucleic acid amplification methods were used to detect *Chlamydia trachomatis* infection in endocervical swabs from 100 female students. Transcription-mediated amplification proved to be a more sensitive tool compared with PCR. Chlamydial infection rate in our group was found to be 12%, i.e. higher than in other populations. The infection is believed to be due to the early age at the first sexual intercourse and a large number of sexual partners.

*Key words:* *Chlamydia trachomatis*, female students, nucleic acid amplification, transcription-mediated amplification, polymerase chain reaction.

*Chlamydia trachomatis* является наиболее распространенным возбудителем бактериальных инфекций, передаваемых половым путем (ИППП). Часто протекая латентно, генитальная хламидийная инфекция приводит к ряду осложнений: воспалительным заболеваниям органов малого таза, бесплодию, невынашиванию беременности, нарушениям менструального цикла и др. В России распространенность генитальной хламидийной инфекции среди женщин составляет 6% [1].

В настоящее время основным способом диагностики некоторых бактериальных ИППП являются тесты, основанные на амплификации нуклеиновых кислот (НК). Полимеразная цепная реакция (ПЦР), лигазная цепная реакция (ЛЦР) и амплификация посредством транскрипции (АПТ) служат «золотым стандартом» в выявлении генитальной хламидийной инфекции и все более часто используются для скрининга гонококковой инфекции [2, 3]. Эти методы обладают большей специфичностью и, особенно, чувствительностью, чем традиционно используемые (иммуноферментный анализ и прямая иммунофлюоресценция) [4]. Культуральный метод сложен, малодоступен, не стандартизован и на практике применяется достаточно редко.

Теоретически тесты, использующие амплификацию НК, способны определять даже один микроорганизм в образце. Однако на практике эта чувстви-

тельность достигается далеко не всегда из-за ряда проблем, в частности ингибирования различными компонентами клинического материала, такими как гормоны, гемоглобин, соли органических кислот, иммуноглобулины, и другими продуктами клеточного метаболизма, а также из-за потери НК во время экстракции [3, 5].

Цель настоящего исследования — оценка частоты выявления *C. trachomatis* в эндоцервикальных образцах у молодых женщин с использованием тест-систем на основе ПЦР и АПТ и сопоставление наличия инфекции с клиническими проявлениями и результатами гинекологического исследования.

### Материал и методы

Для проведения исследования приглашались студентки нескольких вузов Новосибирска для добровольного бесплатного тестирования ИППП. Использовали курсовые лекции для устного объявления и помешали на стенд печатную информацию. Обследованы 100 студенток в возрасте от 16 до 24 лет (средний возраст 20,6 года).

Для выявления социально-демографических показателей, особенностей сексуального поведения и клинических симптомов, а также данных гинекологического исследования использовали стандартизованный опросник, любезно предоставленный компанией «Плива Хрватска» (Хорватия).

При проведении гинекологического исследования эндоцервикальные образцы отбирались по инструкции, предлагаемой фирмой-изготовителем диагностикомов. Отдельным тампоном удалялась лишняя слизь из входа в цервикальный канал и с окружающей слизистой. Далее один за другим вводили два других тампона на 1–1,5 см в цервикальный канал и вращали их в течение 10–30 с для получения достаточного количества материала. Осторожно вынимали тампоны, избегая их соприкосновения с вагинальной слизистой, и погружали их в пробирки с прилагаемыми к тест-системам транспортировочными средами. Пробирки пронумеровывали в соответствии с номером анкеты, плотно закрывали и образцы замораживали. Образцы хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  не более 3–4 нед после взятия, а затем в замороженном виде транспортировали в диагностические лаборатории в течение 2–3 сут.

В эндоцервикальных образцах определяли наличие НК *C. trachomatis* — РНК с применением тест-системы на основе технологии АПТ («АРТИМА Combo 2 Assay» и «Gen-Probe АРТИМА СТ», Gen-Probe Incorporated, San Diego, США) и ДНК с использованием тест-системы на основе технологии ПЦР («Cobas AMPLICOR PCR CT Test»; Roche Diagnostics Corporation, Basel, Швейцария). Тестирование образцов проводилось в ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва) и в лаборатории медицинской микробиологии (Алкмаар, Нидерланды).

*Статистическая обработка* проведена с применением программы SPSS 8.0. Достоверность различий оценивали с использованием критериев Стьюдента, Краскела—Уоллиса, Мантел—Хэнсзела и точного теста Фишера. Критерием статистической достоверности был уровень  $p=0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Эндоцервикальные образцы, полученные от 100 обследуемых женщин, были тестированы на наличие НК *C. trachomatis* с помощью АПТ и ПЦР. АПТ выявила 12 позитивных образцов и 88 — негативных. ПЦР выявила 11 позитивных образцов, 78 — негативных, и в 11 образцах наблюдалось ингибирование реакции амплификации (табл. 1, I-й этап). Таким образом, результаты АПТ и ПЦР совпали в 86 случаях (10 позитивных и 76 негативных). Кроме того, 1 случай хламидийной инфекции был выявлен только при помощи ПЦР и 2 случая — только при помощи АПТ.

Три расходящихся результата были дополнительно проверены при помощи обеих тест-систем, а также с помощью дополнительной тест-системы Gen-Probe АРТИМА СТ, в которой используются праймеры к другому участку последовательности РНК, чем в АРТИМА Combo 2 Assay, следовательно, она может рассматриваться в качестве подтверждающего теста [3]. Все три результата совпали с АПТ. Положительная по первому ПЦР-тестированию проба при повторном ПЦР-исследовании дала отрицательный результат. Таким образом, один положительный результат при первом ПЦР-тестировании можно рассматривать как ложноположительный.

У 11 женщин с невалидными результатами ПЦР вновь были получены образцы, которые были по-

Таблица 1. Сопоставление результатов АПТ и ПЦР

	АПТ+	АПТ–	Всего
I этап			
ПЦР+	10	1	11
ПЦР–	2	76	78
Всего	12	77	89*
II этап			
ПЦР+	10	1	11
ПЦР–	2	87	89
Всего	12	88	100

*Примечание.* \* Не учтены 11 женщин, у которых результаты ПЦР были невалидными. Чувствительность ПЦР — 83,3% (10/12), специфичность ПЦР — 98,9% (87/88).

вторно тестированы при помощи ПЦР. Один из них оказался позитивным.

Таким образом, обе тест-системы дали сходные результаты (см. табл. 1, II этап). Однако ПЦР показала несколько меньшую чувствительность: из 12 позитивных образцов лишь 10 были выявлены. Кроме того, из 100 тестированных первоначально образцов 11% оказались невалидными вследствие ингибирования реакции амплификации, что требует повторного проведения анализа этим или другим методом. В ряде работ уже указывалось на высокий процент невалидных результатов при диагностике хламидийной инфекции с использованием наборов Cobas AMPLICOR PCR CT Test. Это связано с неэффективной в рамках данной тест-системы методикой обработки клинического материала [6]. В сходном исследовании при сопоставлении АПТ и ЛЦР оказалось, что ЛЦР также дает некоторый процент ложноположительных и ложноотрицательных результатов по сравнению с АПТ [3].

Одним из преимуществ АПТ является использование в качестве субстрата рибосомальной РНК, а не ДНК. Известно, что у разных видов бактерий при различных условиях количество рибосом может варьировать от нескольких тысяч до нескольких сотен тысяч на клетку. В этом случае вероятность получения амплифицированного продукта гораздо выше, чем в случае использования низкокопийных ДНК-мишеней. Это очень важно в тех случаях, когда микроорганизм присутствует в образце в небольшом количестве.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости использования нескольких тестов для надежной диагностики хламидийной инфекции, что важно как с медицинской, так и этической точки зрения. Получение ложноотрицательного результата у женщины, не предъявляющей жалоб, вероятно, не влияет на качество ее жизни, но может потенциально привести к нарушению ее репродуктивной функции. С другой стороны, ложноположительный результат приводит к неоправданному назначению антибактериальной терапии, материальным затратам на лечение и, более того, к проблемам, имеющим социальный и личностный характер, например, к возникновению чувства вины и обусловленным этим психологическим проблемам с супругом и др.

Таблица 2. Факторы риска ИППП и клинические проявления в зависимости от инфицирования *C. trachomatis*

Показатель	<i>C. trachomatis</i> +	<i>C. trachomatis</i> -	<i>p</i>
Возраст, годы	19,4±0,8	20,7±0,2	0,1
Возраст при первом половом контакте, годы	16,2±0,4	17,5±0,2	0,023
Общее количество половых партнеров	5,8±1,5	2,8±0,3	0,012
Новый партнер в последние 3 мес, %	16,7	6,8	0,24
Использование презервативов всегда или часто, %	25,0	45,5	0,18
ИППП в анамнезе, %	8,3	12,5	0,56
Влагалищные выделения, %	66,7	31,8	0,023
Зуд в области гениталий, %	33,3	9,1	0,035
Боль в области гениталий, %	16,7	10,2	0,39
Усиление менструальных кровоточений, %	25,0	5,7	0,053
Усиление болей во время менструации, %	41,7	29,5	0,29
Дизурия, %	0	10,2	0,30
Боль во время полового контакта, %	16,7	22,7	0,48
Кровотечения между менструациями, %	16,7	9,1	0,34

Примечание. Процент выражает частоту данного показателя.

Далее была определена частота инфицирования *C. trachomatis* в обследованной группе (ее можно определить корректно как «студентки, которые явились для добровольного бесплатного тестирования на ИППП»). Частота выявления *C. trachomatis* составила 12% при условии, если любой из тестов был позитивным, и 10%, если позитивными оказались оба теста на основе технологий АПТ и ПЦР.

Полученные данные трудно сопоставить с ранее опубликованными работами из-за специфичности обследованной выборки. По данным А.А. Хрянина, частота выявления генитальной хламидийной инфекции у молодых женщин (на основе технологии АПТ), проходивших плановый медицинский осмотр, и беременных составила 4,7% [7]. Большую частоту инфицирования молодых женщин в настоящем исследовании можно объяснить наличием либо клинических проявлений, либо предполагаемой студенткой возможностью заражения ИППП.

Интересно сопоставить наши данные с результатами, полученными в других популяциях, хотя подобные исследования в мире единичны. В аналогичных исследованиях частота выявления *C. trachomatis* среди студенток колледжей и университетов в США составила 2,3 [8] и 3,8% [9], а среди молодых женщин, вступивших в армию, в тех же США была существенно выше — 11,6% [10]. В других странах частота обнаружения *C. trachomatis* среди студенток составила 2,3% — в Новой Зеландии [11] и в Австралии [12]. Таким образом, частота выявления генитальной хламидийной инфекции среди студенток Новосибирска выше, чем среди студенток в США и других развитых странах.

Факторами, обычно связанными с повышением риска заражения ИППП, в данной работе ассоциированными с *C. trachomatis*, оказались ранний возраст начала половой жизни и большее число половых

партнеров в течение жизни (табл. 2). Другие факторы не были связаны с заражением. Среди клинических проявлений у инфицированных чаще наблюдались влагалищные выделения и зуд (но не боль) в области гениталий, усиление менструальных кровоточений, усиление менструальных болей, дизурия, боль во время сексуальных контактов. При объективном гинекологическом осмотре не было выявлено специфических признаков у инфицированных хламидиями (учитывались эритема, отечность шейки матки, болезненность, выделения и т.д.).

### Заключение

Итак, большинство результатов выявления *C. trachomatis* совпали при использовании обоих методов, однако АПТ показала несколько большую чувствительность. Частота выявления генитальной хламидийной инфекции среди студенток Новосибирска, прошедших профилактическое обследование, составила 12%, что выше, чем соответствующий показатель в развитых странах. Факторами, ассоциированными с заражением *C. trachomatis*, оказались ранний возраст начала половой жизни и большее число половых партнеров. Инфицированные чаще отмечали изменения характера влагалищных выделений и зуд в области гениталий, однако при гинекологическом осмотре изменений не выявлялось.

### Благодарность

Авторы выражают глубокую признательность за помощь в проведении настоящего исследования компании «Плива Хрватска» (Загреб, Хорватия) и лично г-же J. Strugar-Sujica и профессору И.Б. Левшину, а также компании «Gen-Probe Inc.» (Сан-Диего, США) и лично г-ну P. McMullin и проф. M. Dubucq.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Хрянин А.А., Решетников О.В., Кривенчук Н.А. и др. Распространенность хламидийной и гонококковой инфекций и особенности сексуального поведения у женщин репродуктивного возраста. Акуш и гин 2004;4:44—47.
2. Miller W.C., Ford C.A., Morris M. et al. Prevalence of chlamydial and gonococcal infections among young adults in the United States. JAMA 2004;291:2229—2236.
3. Boyadzhyan B., Yashina T., Yatabe J.H. et al. Comparison of the APTIMA CT and GC assays with the APTIMA combo 2 assay, the Abbott LCx assay, and direct fluorescent-antibody and culture assays for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. J Clin Microbiol 2004;42:3089—3093.
4. Watson E.J., Templeton A., Russell I. et al. The accuracy and efficacy of screening tests for Chlamydia trachomatis: a systematic review. J Med Microbiol 2002;51:1021—1031.
5. Васильев М.М., Николаева Н.В. Хламидийная инфекция. Проблема антибиотикорезистентности. Вестн дерматол и венерол 2003;3:18—22.
6. Verkooyen R.P., Luijendijk A., Huisman W.M. et al. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR Chlamydia trachomatis assay. J Clin Microbiol 1996;34:3072—3074.
7. Хрянин А.А. Особенности полового поведения и распространенность хламидийной и гонококковой инфекций у женщин репродуктивного возраста (популяционное исследование). Рос журн кож и вен бол 2004;4:42—48.
8. Cook R.L., St George K., Lassak M. et al. Screening for Chlamydia trachomatis infection in college women with a polymerase chain reaction assay. Clin Infect Dis 1999;28:1002—1007.
9. Sipkin D.L., Gillam A., Grady L.B. Risk factors for Chlamydia trachomatis infection in a California collegiate population. J Am Coll Health 2003;52:65—71.
10. Shafer M.A., Moncada J., Boyer C.B. et al. Comparing first-void urine specimens, self-collected vaginal swabs, and endocervical specimens to detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by a nucleic acid amplification test. J Clin Microbiol 2003;41:4395—4399.
11. Corwin P., Abel G., Wells J.E. et al. Chlamydia trachomatis prevalence and sexual behaviour in Christchurch high school students. N Z Med J 2002;115:U107.
12. Debattista J., Martin P., Jamieson J. et al. Detection of Chlamydia trachomatis in an Australian high school student population. Sex Transm Infect 2002;78:194—197.

Поступила 16.06.05