**Метод ПЦР в диагностике воспалительных заболеваний мочеполовых путей у мужчин и женщин**

Станкевич Любовь Ивановна.

ПЦР – полимеразная цепная реакция. Это – метод детекции различных микроорганизмов по фрагментам их генома (ДНК или РНК). Изначально метод был изобретён для тестирования чистых культур в бактериологии. Затем стало ясно, что он может быть полезен для прямой детекции инфекционных агентов в биологическом образце. С этого момента начался бум и мода на инфекционную диагностику заболеваний, передающихся половым путём методом ПЦР. Однако, во всем мире сразу обратили внимание на недостатки и ограничения метода и стали относиться к нему дифференцированно для каждого конкретного вида возбудителя и клинического случая. К сожалению, в России этим всем пренебрегли, и началась эпоха дешевого, неточного, некачественного анализа методом ПЦР местного производства. Врачи гинекологи и урологи, не раздумывая назначали анализ «на все!!! инфекции» методом ПЦР, а получая сомнительного качества результаты также, не задумываясь, назначали лечение. Результаты этой эпохи – большое количество пациентов, которым проведена необоснованная терапия антибиотиками, полное неверие и разочарование пациентов в лабораторной диагностике вообще. Ведь не секрет, что стало в порядке вещей перепроверять диагнозы в нескольких клиниках и лабораториях. Иногда это приводило к чередованию ряда противоположных результатов и полной невозможности постановки диагноза и назначения лечения. Произошла полная подмена настоящего бактериологического анализа дешевым набором тестов некачественного ПЦР-анализа. Врач должен знать, что даже отрицательный результат по «всем инфекциям» методом ПЦР не означает благополучия у пациента – воспаление во влагалище или в уретре может быть вызвано бактериальной или грибковой флорой и только бактериологический посев даёт ключ к выявлению возбудителя и, самое главное, позволяет выбрать тот антибиотик для лечения, к которому данный возбудитель у конкретного пациента чувствителен. Только в этом случае лечение будет обоснованным, правильным и эффективным! Тем не менее, для некоторых инфекций метод ПЦР остается самым лучшим средством диагностики, но проблема в условиях нашей страны состоит в том, что практически повсеместно используются диагностикумы, не прошедшие международной сертификации. Те же реагенты, которые разрешены к использованию в ведущих западных странах (фирмы « Roche », « Digene »), дороги (анализ на одну инфекцию стоит от 30 Евро) и, к сожалению, не находят применения в России. Непонятно, почему на этапе диагностики (самом важном) практикующие врачи (а вместе с ними и их пациенты) делают выбор в пользу дешевизны, а не точности и качества исследования. Вероятно потому, что ставится задача заработать на лечении (не важно чем и от чего). Ведь не секрет, что фирменный сертифицированный ПЦР анализ отличается от дешевого тем, что он проводится на автоматическом оборудовании (а не вручную) и в каждом тесте гарантируется выявление как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов. Гарантия на результат дается 99-100% (тогда как в отечественных наборах в лучшем случае 50-70%).

Итак, как же правильно проводить диагностику самых распространенных инфекций урогенитального тракта? Попробуем разобраться:

1) Хламидийная инфекция: только комплекс тестов ПЦР на Chlamydia trach . (мазок или моча) + определение антител по крови ( IgG и IgA к Chlamydia trach .) дает четкое, обоснованное заключение о наличии/отсутствии инфекции и характере её течения. Однако необходимо помнить, что для контроля лечения метод ПЦР не годится, так как он очень чувствителен и выявляет даже единичные копии генома, которые могут оставаться некоторое время после лечения даже при успешной эрадикации возбудителя.

2) Инфекция Neisseria gonorrhoeae – возможны два пути диагностики – и ПЦР-анализ и бакпосев (по микроскопии ставить диагноз врач не имеет права!). ПЦР исследование гораздо более чувствительное, его хорошо применять для первичного скрининга, а бактериологическое исследование дает ключ к ответу о количестве возбудителя и его чувствительности к антибиотикам. Подбирать терапию и контролировать её эффективность лучше с помощью культурального метода.

3) Инфекция Mycoplasma / Ureaplasma – метод ПЦР не годится для диагностики. Высокая специфичность и чувствительность ПЦР-анализа не вызывает сомнений, но использование этой реакции не позволяет определиться врачам-клиницистам при решении следующих вопросов: следует ли рассматривать положительный результат ПЦР как основание для назначения этиотропной терапии при данной форме патологии и каким лекарственным препаратам отдать предпочтение. Кроме того, в настоящее время считается установленным фактом положение о том, что микоплазмы и уреаплазмы могут входить в состав флоры нормального микробиоценоза влагалища (В.Е.Колупаев, В.Е. Маликов и соавт.) Только культуральный метод (посев) позволяет правильно дифференцировать микроорганизмы и проводить количественный анализ их содержания, что, безусловно, увеличивает его диагностическую эффективность в отношении условно-патогенной флоры. Кроме этого, получение чистой культуры возбудителя дает возможность индивидуально подбирать адекватное лечение на основании тестирования антибиотикочувствительности выделенного штамма. Такой подход значительно увеличивает эффективность антибактериальной терапии. Этим же методом хорошо оценивать и результаты лечения.

4) Gardnerella vag . – также представитель условно патогенной флоры влагалища. Всё, что говорилось о ПЦР в плане диагностики микоплазм и уреаплазм, действительно и в случае гарднереллы. Особенно отмечу, что гарднереллы не являются проблемой для мужчин (эпителий в уретре не подходит для роста и размножения этой бактерии). У мужчин она может присутствовать транзиторно, но не являться причиной уретрита и быть поводом для назначения курса антибиотиков. К сожалению, в моей практике много пациентов - мужчин, у которых ПЦР анализом выявлена гарднерелла, был назначен курс антибиотиков для её лечения и они обращались к нам очень обеспокоенные тем, что у них проблема – гарднереллёз. Иначе, как обманом, такую ситуацию назвать нельзя. Что касается женщин, гарднереллы имеют диагностическое значение только в случае превышения пороговой концентрации. Поэтому, приемлемые варианты диагностики – это культуральный метод (посев с определением количества и тестированием чувствительности к антибиотикам) или ДНК-анализ только при условии наличия порогового уровня чувствительности. Например, ДНК-тесты фирмы « Becton Dickinson » разработаны с пороговым уровнем чувствительности для Gardnerella vaginalis 2 х 10 5 КОЕ. Только высокий уровень G . vaginalis – 10 5 КОЕ на 1 мл вагинальной жидкости - коррелирует с бактериальным вагинозом. При отсутствии клинических синдромов обнаружение этой бактерии не является диагностически достоверным. Также, как и в случае с Neisseria gonorrhoeae отмечу, что по микроскопии ставить диагноз и назначать лечение врач не имеет права! Результаты микроскопии мазка из влагалища необходимы для постановки заключения «бактериальный вагиноз». Но его причиной могут быть разные микроорганизмы, не только гарднерелла. Не зная причину вагиноза, нельзя правильно назначить лечение!

5) Candida (грибковые заболевания) – идеальным методом диагностики является посев с определением вида Candida и подбором противогрибковых препаратов, к которым чувствителен именно выделенный у пациента микроорганизм. Несмотря на то, что споры и мицелий Candida хорошо выявляются и при микроскопии мазка, это является только поводом для назначения посева. Лечение врач обязан назначать только в соответствии с тестом на чувствительность к препаратам! Именно пренебрежение этим стандартом в диагностике привело к тому, что сплошь и рядом кандидоз становится хронической и неизлечимой проблемой для пациента. Врач по кругу назначает противогрибковые препараты (по принципу: «это не помогло, попробуем вот это…»), что приводит только к формированию все более резистентной к лечению культуры грибка. Бессимптомная колонизация небольшим количеством этих микроорганизмов влагалища является нормальным. Именно поэтому использовать дорой и сложный ПЦР метод для диагностики Candida нецелесообразно, а если использовать, то только с порогом чувствительности (например, ДНК-тесты фирмы « Becton Dickinson » разработаны с пороговым уровнем чувствительности для Candida spp . 1 х 10 4 клеток).

6) Trichomonas vaginalis – к сожалению, в нашей стране до сих практически нигде Вам ничего не предложат для диагностики этого микроорганизма, кроме микроскопии. Мировыми стандартами уже давно этот метод признан неудовлетворительным для выявления T . vaginalis (метод субъективный: легко пропустить возбудителя или спутать его с клетками, например; воспроизводимости и сходимости результатов нет вообще!). Культуральный метод чувствителен для обнаружения T . vaginalis , но зависит от различных типов сред и требует довольно продолжительного культивирования. Возможно применять и ДНК-анализ, ведь в случае данного возбудителя важно просто выяснить, есть он или нет, так как трихомонады – безусловный патоген.

7) Вирусные инфекции: в плане диагностики воспаления урогенитального тракта прежде всего значимы цитомегаловирусная и герпетическая инфекции. Для всех этих видов вируса правило одно: заражения без серологического ответа (т.е. выработки антител) не бывает, так как для этих вирусов слизистая половых путей – только входные ворота в Ваш организм. Затем они проникают в него и обитают в клетках организма (лимфоцитах, в нервной ткани и др.) Поэтому в первую очередь, необходимо проводить исследование крови на наличие антител обязательно классов и IgG и IgM . В случае герпеса необходимо помнить, что слизистую половых органов чаще всего поражает вирус герпеса 2 типа, (тестировать нужно антитела именно к HSV 2 типа). Многие лаборатории делают тест без разбора (просто на герпес и всё) и, как правило, получают положительный результат, который ничего не значит – тест положительный за счет антител к герпесу 1 типа, который к половым инфекциям не имеет никакого отношения! Метод ПЦР хорош только в первые 2-3 недели после заражения: антитела ещё не выработались, их в крови нет, а в слизистой можно выделить вирусный геном. Но, заражение чаще всего протекает бессимптомно, в этот момент пациенты не обращаются за помощью. Проблемы начинаются спустя некоторое время, анализ ПЦР может давать отрицательные результаты (вирус уже ушел вглубь организма) и только появление антител в крови и оценка их динамики является ключом к диагностике и определению стадии заражения (острая, хроническая, перенесенная, реактивация хронической и т.п.)

8) Отдельно скажу о вирусе папилломы человека ( HPV ): эта разновидность вирусов обитает в клетках слизистой мочеполовых путей. Самый лучший способ выявить HPV – это ПЦР анализ (или его аналоги). В подавляющем случае присутствие вируса не приносит никакого вреда. Однако, заражение вирусом папилломы, относящимся к типу высокого риска, и его персистенция могут привести к раку шейки матки. Поэтому во время анализа важно выяснить, к какому типу (высокого или низкого риска) онкогенности относится выявленный вирус.

Теперь о самом главном: до 70% вагинитов, цервицитов, простатитов и уретритов обусловлено неспецифической бактериальной флорой (стафилококки, стрептококки, кишечная палочка и др.). То есть, в первую очередь, необходимо делать бактериологический посев для выявления причины воспаления. До 50% заболеваний протекает при наличии 2-х и более возбудителей. Поэтому, если ставится задача полной диагностики мочеполового тракта на предмет наличия/отсутствия инфекций, то стандартный набор диагностики должен включать в себя полный микробиологический скрининг, посев на микоплазмы/уреаплазмы, тесты на хламиди (ПЦР + антитела в крови). У женщин обязательна микроскопия мазка из влагалища к указанному набору. Если при микроскопии выявлены признаки бактериального вагиноза, появляется подозрение на трихомоны, гарднереллы или нейссерии, то необходимо решать вопрос с врачом о дополнительной диагностике этих возбудителей.

В качестве резюме напомню главную заповедь врача, если он хочет вылечить больного: «Лечить необходимо причину болезни, а не её симптомы!!!»

А пациентам важно помнить, что во всем цивилизованном мире лечение большинства случаев неосложненных инфекций и заболеваний, передающихся половым путем всегда дешевле диагностики!!! (из статьи д-ра Живов А.В.)

**Список литературы**

Для подготовки данной работы были использованы материалы с сайта <http://www.ditrix.ru>