

© О. Е. Пунченко, С. В. Рищук, 2012  
УДК 616.973-071-08

**О. Е. Пунченко<sup>1</sup>**  
канд. мед. наук

**С. В. Рищук<sup>1,2</sup>**  
докт. мед. наук

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Северо-Западный институт андрологии, Санкт-Петербург

## Качество диагностики и лечения нейссерииальной инфекции

Гонорея остается актуальной инфекцией, передающейся половым путем. Часто встречается бессимптомное течение инфекции в половых путях и уретре у женщин, а также в прямой кишке и ротовой полости — как у мужчин, так и у женщин. Существуют два пути для детекции *Neisseria gonorrhoeae*: амплификация нуклеиновых кислот и культуральный метод. *Neisseria gonorrhoeae* можно обнаружить при микроскопии мазков с окраской по Граму из половых путей. Этот способ является самым быстрым для диагностики острой инфекции. Ни один метод не обладает 100 % чувствительностью и специфичностью. Использование культурального метода является единственным способом диагностики при персистенции гонококка после неудавшегося лечения. Молекулярные методы с использованием амплификации нуклеиновых кислот остаются единственно надежными для поиска *Neisseria gonorrhoeae* при бессимптомном инфицировании и локализации возбудителя в половых путях и уретре. Появляются клинические отчеты о неудачном лечении гонореей с использованием традиционных схем и возрастающей утратой чувствительности гонококка к цефалоспорином третьего поколения.

**Ключевые слова:** гонорея, *Neisseria gonorrhoeae*, эпидемический процесс, качество диагностики, антибактериальные препараты

Гонорея является одной из самых изученных и часто встречаемых в мире инфекций, передающихся половым путем (ИППП). Тем не менее, из-за отсутствия вакцины уровень заболеваемости гонореей зависит, в первую очередь, от полового поведения человека и от профилактических мер, принимаемых на государственном уровне. В 2009 г. заболеваемость в странах, которые ведут регистрацию гонореей, составила: в РФ — 48,1 на 100 тыс. населения, США — 106 на 100 тыс. населения, в странах ЕС — 9,7 (от 27,6 в Великобритании до 1,0 в Греции) на 100 тыс. населения [1]. В мире отмечена тенденция к снижению заболеваемости гонореей в ряде стран, в которых в 1990-е гг. регистрировали высокие темпы роста (РФ, Эстония, Болгария, Чехия и ряд других), и рост или колебания в остальных странах. В год в США официально регистрируют около 300 000–350 000 новых случаев [2]. Общеизвестно, что заболеваемость населения, по крайней мере, в 2 раза выше официально зарегистрированной, поскольку гонорея протекает бессимптомно у 3–5 % инфицированных, а также в статистические отчеты могут не попадать больные от частных врачей.

Нелеченая гонорея опасна развитием восходящей инфекции с поражением малого таза у женщин и такими тяжелыми осложнениями, как бесплодие, эктопическая беременность или перигепатит. У мужчин нелеченая гонорея приводит к эпидидимиту. Диссеминация, наблюдающаяся в 1 % случаев, может закончиться септициемией и артритом. Гонорея аноректальной и фарингеальной областей часто протекает с неспецифическими симптомами. У женщин с гонорейной инфекцией в половых путях выделяют *Neisseria gonorrhoeae* из ректальной области в 30–60 % случаев. По данным центров по контролю за заболеваемостью и профилактики инфекций (CDC), лица с гонорейной инфекцией более восприимчивы к ВИЧ, а также чаще являются источником ВИЧ, по сравнению с лицами без гонорей [3, 4]. Поэтому профилактика гонорей, как и всех ИППП, имеет важное значение в сохранении здоровья нации.

В Российской Федерации, в соответствии с приказом Минздравсоцразвития от 12.04.2011 [5], раз в год подлежат обследованию на гонорею лица, занятые в производстве продуктов питания, работающие с детьми, медработники и ряд других. Скрининговое обследование молодых людей 16–35 лет на гонорею в Австралии привело к выявлению бессимптомной инфекции в 12 % случаев [6]. Аналогичное обследование

Ольга Евгеньевна Пунченко  
e-mail: Olga.Punchenko@mail.ru

в США 25 779 пациентов, обратившихся за медицинской помощью в период 2003–2010 гг., выявило 0,2 % больных гонореей с помощью рутинного метода [7] и 0,9 % — при использовании молекулярно-генетических методов [8].

Алгоритм обследования на гонорейную инфекцию практически одинаков во всех странах. Обычно лаборатории выбирают тесты, исходя из своих возможностей, а также учитывая распространенность гонореи на данной территории. При этом нет ни одного теста со 100 % чувствительностью и специфичностью. В нашей стране диагностика этой инфекции регламентирована приказом Минздрава СССР от 22.04.1985 г. [9], приказом Минздрава РФ от 21.02.2000 [10] и от 20.08.2003 [11]. Предпочтение отдается бактериологической диагностике. Она основана на микроскопии окрашенного по Граму препарата и культурального исследования с посевом на специальные среды с обязательным проведением цитохромоксидазного теста, а также на исследовании сахаролитических свойств.

Чувствительность метода микроскопии с окраской по Граму материала от мужчин колеблется от 50–75 % при бессимптомной инфекции до 95 % при выраженных проявлениях; от женщин — от 20 % для материала из уретры до 37–50 % для материала из половых путей [12]. Чувствительность первичной микроскопии можно повысить до 97,3 %, а специфичность — до 99,6 % при использовании комбинации метиленового синего и генцианового фиолетового, но только в отношении материала от мужчин [13]. Вероятность ложных ответов снижается при повторном проведении микроскопии. Микроскопия не рекомендована для материала из ротоглотки. Также метод имеет низкую чувствительность при исследовании ректальных мазков от женщин без проявления инфекции.

При оценке качества микроскопической диагностики возбудителя гонореи в лабораториях РФ, по данным Федеральной системы внешней оценки качества, за период 2007–2010 гг. ложноположительные результаты при выявлении гонококка по микрофотографии составили 5,4 %, ложноотрицательные — 8,5 %. При проведении экспертной оценки качества выявления гонококков в препаратах отделяемого слизистой оболочки урогенитального тракта, изготовленных самими участниками, выявлена ложноположительная диагностика в 5,7 %, ложноотрицательная — в 0,5 % случаев; при этом в 5 % случаев присланный на оценку материал в работу не включали из-за низкого качества

приготовления и окрашивания мазка. Экспертная оценка качества препаратов выявила неудовлетворительное качество мазков (43,4 %), связанное с плохой фиксацией, неравномерностью окраски, наличием толстых участков с непрокрашенными клетками, недообесцвечивания или переобесцвечивания. Часть лабораторий окрашивает препараты метиленовым синим, хотя данный вид окрашивания не позволяет провести дифференциацию микроорганизмов по тинкториальным свойствам. В 21 % случаев мазки были толстыми, в 5 % — тонкими, что приводило к ложноотрицательным результатам. На многих мазках не было указано место взятия материала [14].

Подтверждение выросших на питательных средах колоний ограничивается постановкой оксидазной активности, окраской по Граму и ферментацией глюкозы до кислоты. Затруднения могут возникнуть при выделении штамма, слабо ферментирующего глюкозу, а также сахарозоотрицательных штаммов *Neisseria subflava*, *Neisseria meningitidis* и глюкозоположительных штаммов *Neisseria cinerea*. Использование хромогенных сред не помогает в дифференциальной диагностике, так как рост таких непатогенных нейссерий, как *Neisseria cinerea*, *Neisseria sicca*, *Neisseria subflava*, *Neisseria mucosa*, напоминают рост *Neisseria gonorrhoeae*. Некоторые штаммы *Neisseria gonorrhoeae* нуждаются в дополнительных веществах при культивировании на питательных средах. Они получили название ауксотипов, и на сегодняшний день их известно около 30. Самым распространенным является ауксотип *AHU*, так как ему требуется аргинин, гипоксантин и урацил. Этот тип характеризуется высокой чувствительностью к пенициллину и часто бывает причиной бессимптомного инфицирования мужчин.

Несмотря на то, что по ряду причин чувствительность однократного посева может не достигать 40 %, в РФ однократный отрицательный ответ при микроскопии и посеве служит основанием для выдачи отрицательного ответа. Учитывая, что большинство лабораторий используют только бактериоскопию, качество диагностики гонореи находится на низком уровне.

Диагностика иммунитета базируется на использовании моноклональных антител и включает реакцию ко-агглютинации (РА) и реакцию иммунофлюоресценции (РИФ). При этом не требуется выделение чистой культуры, а материал можно хранить в холодильнике до 7 дней.

Редкие штаммы *Neisseria lactamica* могут давать ложноположительную реакцию в РА.

Использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) для детекции ДНК или рРНК также имеет ряд ограничений. Ее нельзя использовать для материала из зева и прямой кишки, а также для постановки диагноза у детей и контроля лечения; ложноотрицательный результат дают штаммы с продукцией β-лактамаз. Также описаны случаи ложноположительного результата при тестировании образцов, содержащих *Neisseria subflava* [15]. Тест амплификации нуклеиновых кислот (NAATs) превосходит по чувствительности ПЦР и характеризуется одинаково высокой чувствительностью (более 96 %) как при наличии симптомов, так и при их отсутствии у мужчин и женщин [16]. NAATs используются для поиска возбудителя в том числе и в моче, преимущественно у мужчин, а также он эффективен для одновременной детекции гонококков и хламидий. Для исключения ложноотрицательных результатов из-за присутствия в материале ингибиторов амплификации требуется постановка контролей. Положительный результат теста в экстрагенитальном материале при низком уровне заболеваемости гонореей на территории требует подтверждения другим методом.

Выявление в образцах материала *Neisseria gonorrhoeae* требует назначения антибактериальной терапии. Начиная с 1976 г., появляются сообщения о штаммах, устойчивых к пенициллину. И если вначале продукция лактамаз была закодирована в плазмиде (пик выделения таких штаммов составил 11 % в США в 1991 г. с последующим снижением до 0,4 % в 2006 г.), то на сегодняшний день это свойство закодировано в хромосоме бактерии — 5,7 % выделенных штаммов в 1999 г. и 1,2 % в 2006 г. Помимо устойчивости к пенициллину (22 % штаммов в Великобритании), *Neisseria gonorrhoeae* приобрела устойчивость к тетрациклину (9,3 % штаммов — в США, 68 % — в Великобритании),

ципрофлоксацину (15,1 % штаммов — в США, 35,5 % — в Великобритании) и тетрациклину (68 % штаммов — в Великобритании). В Великобритании циркулируют штаммы с устойчивостью к азитромицину (МИК > 256 мг/л), цефиксиму (МИК ≥ 0,25 мг/л) и цефтриаксону (МИК ≥ 0,125 мг/л) [1]. Штаммы с аналогичными характеристиками выделяли в Канаде с 2001 до середины 2010 г. [17]. В Японии в 2000 г. зарегистрированы первые штаммы гонококков, устойчивые к цефтриаксону. Новый высокорезистентный к цефтриаксону штамм *Neisseria gonorrhoeae* H041 был также впервые выделен в этой стране [15].

CDC для лечения гонореи рекомендованы цефалоспорины. Добавление азитромицина для усиления эффекта от цефалоспоринов или доксициклина в схему лечения снижает количество резистентных штаммов, а также способствует элиминации хламидий, которые часто выделяют вместе с *Neisseria gonorrhoeae*. Последние рекомендации для лечения гонореи предлагают однократное использование цефтриаксона в дозе 250 мг в/м с одновременным приемом азитромицина в дозе 1 г *per os*.

Анализируя данные отечественной и зарубежной литературы, можно сделать вывод, что для массового скрининга на гонорейную инфекцию на сегодняшний день оптимальнее использовать комбинацию микроскопии материала с окраской по Граму и культуральное исследование при условии внутрилабораторного контроля качества. При микроскопической диагностике гонореи следует избегать технических ошибок по вине неквалифицированного персонала, обеспечивающего взятие материала и окраску препаратов. Получение чистой культуры даст возможность провести тестирование на чувствительность к антибактериальным препаратам, а также позволит провести генное типирование штаммов. Применение иммунологических и молекулярно-биологических тестов повысит надежность выдаваемого результата.

## Литература

1. Unemo M., Shipitsyna E., Domeika M. Gonorrhoeae surveillance, laboratory diagnosis and antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria Gonorrhoeae* in 11 countries of the eastern part of the WHO European region // *APMIS*. 2011. Vol. 119 (9). P. 643–649.
2. Mahon C. R., Lehman D. C., Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology (4 th ed.). 2011. P. 376–386.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Официальный сайт: <http://www.cdc.gov>.
4. Костюкова Н. Н., Бехало В. А. Эпидемический процесс гонореи в современном мире // *Журн. микробиол.* 2009. № 1. С. 87–93.
5. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 12.04.2011 г. № 302н «Об утверждении перечней вредных и (или)

- опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и порядка проведения предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда». Зарегистрирован в Минюсте РФ 21.10.2011 № 22111.
6. Mossenson A., Algie K., Olding M. et al. «Yes we can» — a nurse-driven asymptomatic screening program for Chlamydia and gonorrhea in a remote emergency department // *Sexual. Hlth.* 2012. Vol. 9 (2). P. 194–195.
  7. Stauffer W. M., Painter J., Mamo B. et al. Sexually transmitted infections in newly arrived refugees: is routine screening for *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection indicated? // *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 2012. Vol. 86 (2). P. 292–295.
  8. Skidmore S., Copley S., Cordwell D., et al. Positive nucleic acid amplification tests for *Neisseria gonorrhoeae* in young people tested as part of the National Chlamydia Screening Programme // *Int. J. STD and AIDS.* 2011. Vol. 22 (7). P. 398–399.
  9. Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».
  10. Приказ Минздрава РФ от 21.02.2000 № 64 «Об утверждении Номенклатуры клинических лабораторных исследований».
  11. Приказ Минздрава РФ от 20.08.2003 № 415 «Об утверждении протокола ведения больных «Гонококковая инфекция»».
  12. Bignell C., FitzGerald M. UK national guideline for the management of gonorrhoea in adults, 2011 // *Int. J. STD and AIDS.* 2011. Vol. 22. P. 541–547.
  13. Taylor S. N., DiCarlo R. P., Martin D. H. Comparison of methylene blue/gentian violet stain to Gram's stain for the rapid diagnosis of gonococcal urethritis in men // *Sexual. Transmitt. Dis.* 2011. Vol. 38 (11). P. 995–996.
  14. Сердюк А. П., Малахов В. Н. Качество микроскопического выявления возбудителей трихомоноза и гонореи в лабораториях России // *Terra Medica.* 2011. № 1. С. 24–30.
  15. Goire N., Ohnishi M., Limnios A. E. et al. Enhanced gonococcal antimicrobial surveillance in the era of ceftriaxone resistance: a real-time PCR assay for direct detection of the *Neisseria gonorrhoeae* H041 strain // *J. Antimicrob. Chemother.* 2012. Vol. 67 (4). P. 902–905.
  16. Schacher J., Chernesky M. A. Routine confirmation of positive nucleic acid amplification test results for *Neisseria gonorrhoeae* is not necessary // *J. clin. Microbiol.* 2012. Vol. 50 (1). P. 209–210.
  17. Martin I., Sawatzky P., Allen V. et al. Emergence and characterization of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with decreased susceptibilities to ceftriaxone and cefixime in Canada: 2001–2010 // *Sexual. Transmitt. Dis.* 2012. Vol. 39 (4). P. 316–323.

O. E. Punchenko<sup>1</sup>, S. V. Rishchuk<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>I. I. Mechnikov North-West State Medical University, St. Petersburg

<sup>2</sup>North-West Institute of Andrology, St. Petersburg

### Quality of diagnosis and treatment of *Neisseria gonorrhoeae* infection

Gonorrhoea remains a major bacterial sexually transmitted infection. It is frequently asymptomatic at the endocervix and urethra in women, and usually asymptomatic in the rectum and oro-pharynx in both men and women. There are two principal ways to detect *Neisseria gonorrhoeae* — by detection of amplified nucleic acid and by culture. *Neisseria gonorrhoeae* can also be visualized by microscopy of Gram stained specimens from the ano-genital mucosae and can be used to facilitate rapid diagnosis in symptomatic patients. No test offers 100 % sensitivity and specificity. Testing by culture remains essential where infection persists after treatment and treatment failure is suspected. Molecular detection using nucleic acid amplification tests are the test of choice for testing asymptomatic individuals for urethral or endocervical infection with *Neisseria gonorrhoeae*. There have been clinical reports of treatment failures using recommended treatments for gonorrhoea and increasing concern about reduced sensitivity of *Neisseria gonorrhoeae* to third generation cephalosporins.

**Key words:** gonorrhoea, *Neisseria gonorrhoeae*, epidemic process, quality of diagnostic tool, antibacterial drugs