

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ,
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ
ФИРМА ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ



Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г.

Фемофлор

УРОГЕНИТАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ
БИОТОЙ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА
(Клинико-лабораторная диагностика)

Пособие для врачей

В настоящее время регистрируется тенденция к снижению заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем (ИППП), за исключением вирусных ИППП, что может быть связано, с одной стороны с совершенствованием диагностических мероприятий и расширением возможностей лабораторного обследования больших групп населения России доступными и информативными методами исследования, а с другой стороны, вероятно, регистрируемый уровень заболеваемости не отражает истинного состояния проблемы (отсутствие качественных реагентов, тест-систем, недостаточная оснащенность современным лабораторным оборудованием, коммерциализация, самолечение и др.). В цепи данных рассуждений нельзя упускать из вида следующее – этиологический диагноз ИППП устанавливается только на основании результатов лабораторных исследований, регламентированных нормативными документами МЗ СР РФ, соответственно, показатели заболеваемости в значительной степени определяются качеством лабораторных исследований на всех этапах его проведения, и существует определенная вероятность диагностических ошибок (каждый метод *a priori* имеет допустимый процент ошибки), обусловленная как объективными причинами, так и субъективными, в том числе профессиональной квалификацией врача клинической лабораторной диагностики.

Как известно, наиболее важными факторами, влияющими на распространение ИППП являются социально-демографические, биологические и поведенческие и др. (Прохоренков В.И. и др., 1998; McCuster S. Et al., 1988; Hessol N.A. et al., 1996).

В соответствии с Международной классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (10-я редакция), уреоплазмоз, микоплазмоз (за исключением *Mycoplasma genitalium*), бактериальный вагиноз, урогенитальный кандидоз выведены из числа инфекций, передаваемых половым путем. В связи с этим урогенитальные заболевания, ассоциированные с данными микроорганизмами, исключены Минздравом РФ из ежегодного статистического отчета с 1999 года, поэтому официальных показателей заболеваемости по этим нозологиям с 1999 года в России нет. Проводимый в России до 1999 года учет больных за пятилетний период с 1993 года по 1998 год продемонстрировал увеличение заболеваемости уреоплазмозом в 3,9 раза, бактериальным вагинозом – в 4,8 раз, урогенитальным кандидозом – в 3,2 раза. Удельный вес уреоплазмоза в структуре ИППП составил к 1998 году 7,0%, урогенитального кандидоза – 17,8%, удельный вес бактериального вагиноза увеличился в 3 раза.

Дисбаланс микрофлоры урогенитального тракта женщин, обусловленный условно-патогенными микроорганизмами представляет собой симптомокомплекс, характеризующийся изменением качественного и/или количественного состава нормофлоры, метаболическими и иммунными нарушениями, в ряде случаев клиническими проявлениями. Соответственно, частным проявлением выраженного дисбаланса биоты является бактериальный вагиноз. Этиологическая структура урогенитальных инфекций, обусловленных условно-патогенной биотой, представлена ассоциацией нескольких микроорганизмов. В свою очередь, стертая, малосимптомная субъективная и/или объективная клиническая симптоматика, отсутствие специфических патогномичных симптомов практически в большинстве случаев приводит к поздней обращаемости женщин в лечебные учреждения, уже на стадии развития осложнений и нарушения репродуктивной функции. Поздняя обращаемость, на стадии развития осложнений со стороны репродуктивной функции позволяет рассматривать данную проблему как актуальную, имеющую медико-социальное значение.

Квалифицированное комплексное лабораторное обследование, полное выявление этиологической структуры заболевания позволяет своевременно устанавливать топический клинический диагноз, выявлять осложненные формы течения заболевания, и, соответственно, проводить направленную адекватную этиотропную терапию, в соответствии с принципом «необходимости и достаточности».

В настоящее время для оценки состояния микробиоты используют традиционные методы клинической и лабораторной диагностики:

- Данные клинического осмотра (жалобы, результаты клинического субъективного и объективного осмотра);
- Результаты бимануального исследования;
- Лабораторная диагностика:
 - а) микроскопическое исследование:
 - исследование нативного препарата в темном поле;
 - микроскопия препаратов, окрашенных по Граму;
 - б) культуральное исследование:
 - посевы на среду Эндо, кровяной агар для идентификации аэробных микроорганизмов;
 - посевы на селективные питательные среды для выращивания анаэробных микроорганизмов;
 - в) полимеразная цепная реакция (ПЦР).
- Полимеразная цепная реакция (качественная) – не позволяет определить этиологическое значение тех или иных условно-патогенных микроорганизмов без определения их количественной характеристики;
- Полимеразная цепная реакция в реальном времени с количественной характеристикой тех или иных условно-патогенных микроорганизмов. Однако предлагаемые в настоящее время тест-системы позволяют идентифицировать и оценивать количественную характеристику микроорганизмов, без учета биоты изучаемого эпитопа в целом.

Некорректно поставленный топический и/или этиологический диагноз неизбежно приводит к полипрагмазии или к неадекватной терапии (недостаточные суточные и/или курсовые дозы лекарственных препаратов), в результате чего увеличивается риск рецидивов, приводящих к хронизации инфекционно-воспалительного процесса.

В этой связи, в качестве скринингового метода диагностики состава биоты урогенитального тракта женщин сотрудниками курса «Лабораторной диагностики и лабораторной микологии» при кафедре дерматовенерологии и клинической микологии ГОУ ДПО РМАПО и коллегами НПФ «ДНК-Технология» (Москва) сделана попытка создания эффективного способа клинико-лабораторной диагностики дисбаланса биоты, позволяющего расширить диагностические возможности выявления дисбиотических нарушений на ранней стадии, до развития осложнений. В основу способа положена впервые предлагаемая авторами комплексная количественная оценка биоты методом ПЦР в реальном времени (РВ) с проведением сравнительного анализа конкретных представителей нормо- и условно-патогенной биоты с общим количеством микроорганизмов с целью выявления дисбаланса биоты, степени его выраженности и определения этиологической роли конкретных микроорганизмов в его развитии при условии контроля качества получения клинического образца для исследования.

Способ позволяет в короткие сроки объективно:

1. Оценить качественный и количественный состав биоты;
2. Дифференцировать состояния физиологического равновесия и дисбаланса;
3. Оптимизировать и индивидуализировать лекарственную терапию;
4. Проводить мониторинг эффективности терапии;
5. Определять критерии излеченности и прогноз заболевания;
6. осуществлять контроль качества получения биопробы.

С помощью данного метода определяются следующие показатели:

- 1) контроль взятия материала;
- 2) общая бактериальная масса;
- 3) количество нормобиоты (*Lactobacterium spp.*);
- 4) количество условно-патогенной биоты – факультативные аэробы (*Enterobacteraceae, Streptococcus spp u Staphylococcus spp*), анаэробы (*Gardnerella vaginalis /Prevotella bivia/ Porphyromonas spp; Atopobium vaginae; Eubacterium spp; Sneathia spp /Leptotrihia spp/Fusobacterium spp; Megasphaera spp/Veilonella spp/Dialister spp; Lachnobacterium spp/Clostridium spp; Mobiluncus spp/Corynebacterium spp; Peptostreptococcus spp; Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealiticum; Candida albicans*).

Анализ полученных результатов клинико-лабораторного обследования позволили ГОУ ДПО РМАПО Росздрава и НПФ «ДНК – Технология» оформить и подать заявки на изобретение в Роспатент:

- 1) № 2008 105 063 от 13.02. 2008

«Способ диагностики дисбаланса микробиоты различных биотопов человека и степени его выраженности»;

- 2) № 2008118641 от 14.05.2008

«Способ диагностики инфекционно-воспалительных урогенитальных заболеваний женщин».

Показания и противопоказания к применению метода

Показания:

- Наличие инфекционно-воспалительного процесса урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста вне беременности, вызванного изменением количественного и качественного состава условно-патогенной биоты;
- Профилактическое обследование женщин на урогенитальные инфекции, ассоциированные с условно-патогенной биотой.

Материально-техническое обеспечение метода

1. Зеркала гинекологические двусторчатые из титановых сплавов № 1,2,3, Россия, ГНПП «Мединструмент», АО «Можайский МИЗ» - 75/410.
2. Ложка гинекологическая детская, Россия, ГНПП «Мединструмент», АО «МИЗ им. Ленина» (г.Ворсма) - №81/823-68.

3. Пинцет анатомический 150 мм с травматической нарезкой, Россия, АО «МИЗ им. Ленина» - 78/626-15.
 4. Амплификатор детектирующий: ДТ-96 (ДТ-322), Россия, ЗАО «НПФ ДНК-Технология», (г.Москва).
 5. Центрифуга со скоростью вращения ротора 3000 - 13000 об/мин, Германия Eppendorf.
 6. Термостат твердотельный на 50÷95 °С «Гном» Россия, ЗАО «НПФ ДНК-Технология», (г.Москва).
 7. Микроцентрифуга/вортекс Microspin, Латвия, Biosan;
 8. Холодильник бытовой
 9. Пробирки пластиковые объемом 1,5 мл типа Эппендорф, США – Ахуген.
 10. Пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом, позволяющие отбирать объёмы жидкости 0,5-10 мкл, 5-40 мкл, 40-200 мкл, 200-1000 мкл; Финляндия, BIONIT
 11. Одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических пипеток с маркировкой “RNAase-free, DNAase-free” объемом 1-20 мкл; 1-50 мкл; 1-200 мкл; 100-1000 мкл; Польша, UNITIPS
 12. Набор реагентов «Фемофлор», Россия, ЗАО «НПФ ДНК-Технология», (г.Москва).
- Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям МУ 1.3.1888-04.
- Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям МУ 1.3.1888-04.

Описание метода

Обследование женщин репродуктивного возраста вне беременности с урогенитальными инфекциями, обусловленными условно-патогенной биотой, складывается из опроса, субъективного и объективного обследования, включающего общее исследование состояния организма и специального, т.е. гинекологического исследования, а также данных лабораторных методов диагностики.

Метод клинической диагностики включает выяснение и анализ жалоб, сбор анамнеза, объективный осмотр, бимануальное исследование пациентки. Клинический диагноз отражает форму течения заболевания, топик инфицирования, отсутствие или наличие осложнений. Однако верификация предполагаемого диагноза, как правило, не может основываться только на результатах клинического обследования в силу отсутствия патогномичных специфических симптомов урогенитальных заболеваний, обусловленных условно-патогенной биотой (УПБ), а также превалирования в структуре инфекционно-воспалительных процессов малосимптомных и «стертых» форм заболеваний. К недостаткам клинической диагностики относят также определенной степени субъективизм клинического обследования и различный уровень профессиональной квалификации клинициста.

Этиологическая диагностика осуществляется с помощью лабораторных методов исследования. Этиологический диагноз устанавливается на основании результатов лабораторных исследований и определяет направленный выбор лекарственных препаратов с учетом выявленных этиологически значимых микроорганизмов.

Как известно, эффективность лабораторного исследования определяется качеством

получения взятия клинического образца. С целью выявления различных микроорганизмов, используют различные лабораторные методологии, для каждой из которых определены требования к подготовке пациента к исследованию, лабораторный инструментарий и техника получения биоматериала.

Стандартным и обязательным методом лабораторного обследования на урогенитальные инфекции является микроскопия мазков, окрашенных по Граму. При отсутствии выраженных симптомов воспаления обследование женщин целесообразно проводить в период овуляции, при условии отсутствия приема антибактериальных препаратов *per os* в течение двух месяцев, предшествующего исследованию и *per vaginae* в течение трех недель, а также незащищенных половых контактов в течение предшествующих пяти дней. Накануне и в день обследования пациентке не рекомендуется выполнять спринцевание влагалища.

Материалом для лабораторных исследований (микроскопия, бакпосев) должно служить отделяемое четырех локализаций – уретры, влагалища, цервикального канала шейки матки, ампулы прямой кишки. Свободно стекающее отделяемое удаляется сухим ватным тампоном. Биоматериал из уретры получают на полном мочевом пузыре после массажа уретры через переднюю стенку поступательными движениями от лона к себе с помощью стерильной ложки Фолькмана, введенной на глубину 1,5-2 см от наружного отверстия по передней стенке уретры. Материалом для лабораторного исследования из влагалища (микроскопия, бакпосев) служит отделяемое заднебоковых сводов влагалища. Взятие материала осуществляется ложкой Фолькмана или желобоватым зондом.

Из канала шейки матки с помощью стерильного акушерского или гинекологического пинцета, введенного в эндоцервикальный канал на глубину 1,5 см, берется отделяемое крипт цервикального канала.

Из ампулы прямой кишки материал получают ложкой Фолькмана, вводя ее на глубину 3-4 см и производя циркулярный соскоб слизистой оболочки и ее складок.

Микроскопия мазков, окрашенных по Граму, позволяет определить следующее: 1 – количество и морфотинкториальные характеристики эпителиоцитов; 2 – количество лейкоцитов, наличие фагоцитоза; 3 – морфотипы микроорганизмов (10 морфотипов); 4 – относительную количественную характеристика общего числа микроорганизмов.

Возможности светоптической микроскопии позволяют идентифицировать «морфотипы» следующих микроорганизмов: *Lactobacillus spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides spp.*, *Mobiluncus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Leptotrichia spp.*, *Veillonella spp.*, *Candida spp.*, грамположительные кокки, колиформные палочки.

Кроме того, микроскопия дает возможность приблизительной количественной оценки биоты, что особенно существенно в определении этиологического значения условно-патогенной биоты в развитии воспалительного процесса у конкретной пациентки. С помощью данного метода можно идентифицировать только 10 морфотипов, а некоторые виды этиологически значимых возбудителей невозможно выявить при световой микроскопии, например, такие как *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* и т.д. Существенными недостатками данного метода являются также субъективизм и зависимость результата исследования от профессиональной квалификации врача клинической лабораторной диагностики.

Культуральная диагностика до настоящего времени является «золотым стандартом» лабораторной диагностики любого патологического процесса поскольку позволяет выполнить количественную характеристику, идентифицировать микроорганизм до вида и определить чувствительность выделенного штамма к лекарственным препаратам.

Однако и этот метод не лишен ряда недостатков. Условно-патогенная биота, являющаяся причиной ряда патологических процессов в организме, главным образом, состоит из анаэробных микроорганизмов, для культивирования которых требуются высококачественные селективные питательные среды и создание анаэробных условий. В связи с этим результат лабораторного исследования в значительной степени зависит от оснащенности бактериологической лаборатории необходимым лабораторным оборудованием и реагентами, а также от профессиональной квалификации исследователя. Недостатком метода являются также длительные сроки культивирования (в среднем 7 дней) и необходимость сохранения жизнеспособности микроорганизмов до момента поступления биоматериала в лабораторию. Кроме того, ряд этиологически значимых микроорганизмов относятся к труднокультивируемым, что не позволяет основывать верификацию диагноза на результатах культурального исследования и свидетельствует о необходимости разработки и внедрения в практическое здравоохранение новых скрининговых диагностических подходов для их своевременного выявления.

«Качественный» метод ПЦР (полимеразная цепная реакция) диагностики позволяет быстро и эффективно выявить состав биоты, минуя стадию культивирования и выделения чистых культур бактерий. ПЦР – высокочувствительный метод, оценивающий качественный состав биоты, без учета количественной характеристики исследуемых микроорганизмов, что не позволяет определить этиологическое значение того или иного микроорганизма.

В то же время, стертая, малосимптомная субъективная и/или объективная клиническая симптоматика заболеваний, вызванных условно-патогенной биотой, отсутствие патогномичных специфических симптомов в большинстве случаев приводящая к поздней обращаемости женщин в лечебные учреждения, уже на стадии развития осложнений, поставило задачу разработки количественного, культивационно-независимого метода оценки условно-патогенной биоты.

Таким методом, получившим в последние годы широкое распространение, является метод ПЦР в режиме «реального времени» (РВ), который позволяет не только идентифицировать микроорганизмы до вида, в том числе и трудно культивируемые, но и определить их количественное содержание.

В нашем исследовании были использованы специализированные приборы для проведения ПЦР в режиме «реального времени» ДТ96, ДТ322 (НПФ «ДНК-Технология», г.Москва), с программным обеспечением, установленном на указанном оборудовании. Результаты исследования автоматически регистрируются, данные переводятся в цифровой формат, удобный для трактовки и хранения результатов.

Материалом для исследования методом ПЦР в режиме РВ служит соскоб эпителиальных клеток (уретра, заднебоковой свод влагалища, цервикальный канал шейки матки). Для получения объективного результата необходимо, чтобы исследуемый материал содержал возможно большее количество эпителиальных клеток и минимальное количество слизи и примеси крови. Нарушение техники взятия биоматериала приводит к недостоверному результату и необходимости повторного взятия соскоба.

Клинический материал берут одноразовыми стерильными инструментами типа «Cytobrush». Полученный клинический образец помещают в пробирку типа «Эппендорф», содержащую транспортную среду.

При необходимости исследования материала из нескольких биотопов, процедуру повторяют, каждый раз забирая материал новым зондом в новую пробирку.

Условия хранения и доставки материала для ПЦР исследования

Полученный биологический материал должен быть промаркирован. В сопроводительном направлении необходимо указать: пол, фамилию, имя, отчество, возраст пациента, предполагаемый диагноз или показания к обследованию, день менструального цикла, дату взятия пробы, наименование учреждения, направляющего материал. В том случае, если пациент принимал лекарственный (ые) препарат (ы) per os в течение 2-х месяцев или per vaginam в течение 3-х недель, предшествующих исследованию, рекомендуется указать название лекарственного препарата и суточную и курсовую дозу.

Материал доставляется в лабораторию лицами, получившими специальный инструктаж, с учетом правил транспортировки.

Если время транспортировки биологического материала с момента взятия до момента его доставки в лабораторию от 2 часов до суток, то пробирку с биоматериалом необходимо хранить и доставлять в лабораторию при температуре бытового холодильника (+ 4°C), не замораживая. В случае невозможности доставки образца в лабораторию в течение суток, допускается однократное замораживание и хранение образца биоматериала при -20°C до 1 месяца.

В урогенитальном тракте женщин репродуктивного возраста как аэробные, так и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы могут быть причиной патологических процессов. В таблице 2 представлены систематика и описание свойств микроорганизмов, которые можно диагностировать набором «Фемофлор».

Набор реагентов «Фемофлор», производства «ДНК-Технология» предусматривает возможность анализа ряда показателей (таблица 1):

Таблица 1.

ПОКАЗАТЕЛИ	Фемофлор 4	Фемофлор 8	Фемофлор 16
Контроль взятия материала	√	√	√
Общая бактериальная масса	√	√	√
НОРМОФЛОРА			
Lactobacillus spp.	√	√	√
АЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (факультативные анаэробы)			
Enterobacteriaceae		√	√
Streptococcus spp.		√	√
Staphylococcus spp.			√
АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (строгие анаэробы)			
Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas spp.	√	√	√
Eubacterium spp.		√	√
Sneathia spp./Leptotrichia spp./ Fusobacterium spp.			√
Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.			√
Lachnobacterium spp./ Clostridium spp.			√
Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.			√
Peptostreptococcus spp.			√
Atopobium vaginae			√
МИКОПЛАЗМЫ			
Mycoplasma hominis		√	√
Ureaplasma (urealyticum + parvum)			√
ГРИБЫ			
Candida spp.	√	√	√

Таблица 2.

МИКРООРГАНИЗМЫ, диагностируемые набором «Фемофлор»

Микроорганизм	Систематика, представители	Морфология, тинкториальные и метаболические свойства	Значение группы микроорганизмов в биоценозе
Lactobacillus spp.	Класс Bacilli Порядок Lactobacillales Семейство Lactobacillaceae	Гамположительные палочки	Lactobacillus в большинстве случаев составляют основу нормальной микрофлоры влагалища у женщин репродуктивного возраста (Hill G.B. 1993)
Семейство Enterobacteriaceae	Класс Gammaproteobacteria Порядок Enterobacteriales	Факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки	Являются компонентами нормальной флоры урогенитального тракта у женщин (Кира Е.Ф. 1998)
Streptococcus spp.	Класс Bacilli Порядок Lactobacillales Семейство Streptococcaceae	Грамположительные кокки	Могут быть этиологической причиной аэробного вагинита: (Donder G.G. et al 2002).
Staphylococcus spp.	Класс Bacilli Порядок Bacillales Семейство Staphylococcaceae	Грамположительные кокки	
Gardnerella vaginalis	Класс Actinobacteria Порядок Bifidobacteriales Семейство Bifidobacteriaceae	Анаэробные грамвариабельные палочки, не образующие спор	Gardnerella vaginalis - представитель транзиторной микрофлоры, один из этиологических агентов развития бактериального вагиноза (Hill G.B. 1993)
Prevotella bivia	Класс Bacteroidia Порядок Bacteroidales Семейство Prevotellaceae	Анаэробные грамотрицательные палочки	Виды рода Prevotella встречаются в урогенитальном и кишечном тракте, один из этиологических агентов развития бактериального вагиноза (Hill G.B., 1993)
Porphyromonas spp.	Класс Bacteroidia Порядок Bacteroidales Семейство Porphyromonadaceae	Анаэробные грамотрицательные палочки	Виды рода Porphyromonas входят в состав нормальной микрофлоры урогенитального тракта и полости рта, один из участников развития бактериального вагиноза (Hill G.B., 1993)

Микроорганизм	Систематика, представители	Морфология, тинкториальные и метаболические свойства	Значение группы микроорганизмов в биоценозе
Eubacterium spp.	Класс Clostridia Порядок Clostridiales Семейство Eubacteriaceae	Облигатные анаэробы, грамположительные палочки, не образующие спор	Виды рода Eubacterium являются одними из основных обитателей кишечника. Условные патогены, могут служить этиологическим фактором развития бактериального вагиноза (Spiegel C.A. et al, 1983)
Veillonella spp.	Класс Clostridia Порядок Clostridiales Семейство Veillonellaceae	Анаэробные грамотрицательные кокки	Условно-патогенные микроорганизмы, могут участвовать в развитии бактериального вагиноза (Piot P. et al, 1983)
Megasphaera spp.	Класс Clostridia Порядок Clostridiales Семейство Veillonellaceae	Анаэробные, труднокультивируемые грамотрицательные кокки	Ассоциированы с развитием бактериального вагиноза (Fredericks D.N. et al., 2005(1))
Dialister spp.	Класс Clostridia Порядок Clostridiales Семейство Veillonellaceae	Анаэробные или микроаэрофильные, труднокультивируемые грамотрицательные коккобациллы	Условно-патогенные микроорганизмы, могут участвовать в развитии бактериального вагиноза (Fredericks D.N., 2005(1))
Clostridium spp.	Класс Clostridia Порядок Clostridiales Семейство Clostridiaceae	Облигатные анаэробы, грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры	Нормальные обитатели кишечника, в урогенитальном тракте - условно-патогенные микроорганизмы, могут участвовать в развитии бактериального вагиноза (Fredericks D.N., et al. 2005)
Lachnobacterium spp.	Класс Clostridia Порядок Clostridiales Семейство Lachnospiraceae	Анаэробные, труднокультивируемые, грамположительные палочки	Ассоциированы с развитием бактериального вагиноза (Fredericks D.N. et al., 2005)
Peptostreptococcus spp.	Класс Clostridia Порядок Clostridiales Семейство Peptostreptococcaceae	Анаэробные грамположительные кокки, образующие цепочки	Условно-патогенные микроорганизмы, могут участвовать в развитии бактериального вагиноза (Spiegel C.A., et al 1980)

Микроорганизм	Систематика, представители	Морфология, тинкториальные и метаболические свойства	Значение группы микроорганизмов в биоценозе
Sneathia spp.	Класс Fusobacteria Порядок Fusobacteriales Семейство Leptotrichiaceae	Анаэробные, труднокультивируемые грамотрицательные палочки	Sneathia sanguinegens -микроорганизм, участвующий в формировании бактериального вагиноза (David N., Fredricks et al, 2005)
Leptotrichia spp.	Класс Fusobacteria Порядок Fusobacteriales Семейство Leptotrichiaceae	Анаэробные грамотрицательные извитые формы	Leptotrichia spp ассоциирована с развитием бактериального вагиноза. (Fredericks D.N. et al, 2007)
Fusobacterium spp.	Класс Fusobacteria Порядок Fusobacteriales Семейство Fusobacteriaceae	Анаэробные грамотрицательные палочки	Условно-патогенные микроорганизмы, могут участвовать в развитии бактериального вагиноза. (Piot P. et al, 1983)
Mobiluncus spp.	Класс Actinobacteria Порядок Actinomycetales Семейство Actinomycetaceae	Грамвариабельные анаэробные микроорганизмы, не образующие спор	Условно-патогенные микроорганизмы, принимающие участие в развитии бактериального вагиноза (Spiegel C.A., et al, 1980)
Corynebacterium spp.	Класс Actinobacteria Порядок Actinomycetales Семейство Corynebacteriaceae	Преимущественно анаэробные грамположительные палочки, не образующие спор	Условно-патогенные микроорганизмы, могут вызывать инфекции урогенитального тракта (Funke G, 1997)
Atopobium vaginae	Класс Actinobacteria Порядок Coriobacteriales Семейство Coriobacteriaceae	Анаэробные грамположительные очень мелкие кокки или палочки	Микроорганизм, имеющий этиологическое значение в развитии бактериального вагиноза (Ferris M.J. et al, 2004)
Mycoplasma hominis	Группа Молликуты	Бактерии без клеточной стенки	Условный патоген (Waites KB 2005)
Ureaplasma (urealyticum + parvum)	Группа Молликуты	Бактерии без клеточной стенки	Условный патоген (Waites K.B., 2005)
Candida spp.	Класс Ascomycetes Порядок Endomycetales Семейство Saccharomycetaceae	Аэробные микроорганизмы, грибы	Условно-патогенные микроорганизмы.

Критерии количественной оценки нормальной и условно-патогенной биоты урогенитального тракта женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в режиме «реального времени» набором «Фемофлор» представлены в таблице 3.

Количественную оценку урогенитальной биоты можно проводить как в абсолютных, так и относительных показателях. Абсолютный показатель рассчитывается по номеру цикла в точке пересечения базовой линии при проведении ПЦР в режиме «реального времени», соответствует количеству КОЕ/мл. Этот показатель ориентировочный, зависит от техники взятия биоматериала и способа выделения ДНК. Относительные показатели количественной оценки биоты являются значительно более точными и объективными, так как на них в значительно меньшей степени влияют вариабельность техники взятия биоматериала разными врачами и другие возможные технические особенности.

Контроль взятия материала (КВМ).

Необходимым условием количественного анализа биоты урогенитального тракта является правильная техника взятия соскоба с поверхности соответствующего биотопа (уретра, цервикальный канал, влагалище). Показателем правильного взятия биоматериала является достаточное количество геномной ДНК человека в пробе. Источником этой ДНК являются эпителиальные клетки, попадающие в пробу при правильной технике взятия биоматериала. Оптимальная величина этого показателя должна составлять не менее 10^5 . Показатель оценивается в абсолютных значениях. При величине показателя КВМ меньшей, чем 10^4 , результат ПЦР анализа биоты считается недостоверным, что требует повторного взятия биоматериала.

Общая бактериальная масса (ОБМ).

ОБМ - показатель, по которому можно судить об общем количестве бактерий. ОБМ оценивается только в абсолютных значениях. В норме значение ОБМ составляет $10^6 - 10^8$. Значение ОБМ, превышающее 10^8 , свидетельствует об избыточном количестве микроорганизмов в исследуемом биотопе урогенитального тракта. Значение абсолютного показателя ОБМ меньше, чем 10^5 соответствует уменьшению общей бактериальной массы в образце, что, может быть, следствием антибиотикотерапии, гипоэстрогении различного генеза и др.

Оценка нормобиоты.

Основным представителем нормобиоты урогенитального тракта женщин репродуктивного возраста являются представители рода *Lactobacillus* (ЛБ).

Оценка нормобиоты проводится как в абсолютных показателях, так и относительных, то есть в сравнении с общей бактериальной массой. В норме абсолютный показатель уровня лактобацилл практически не отличается от абсолютного показателя общей бактериальной массы, то есть составляет $10^6 - 10^8$.

Таблица 3.

Критерии количественной оценки показателей уровня биоты для набора реагентов «Фемофлор»

ПОКАЗАТЕЛИ	Абсолютный показатель*	Относительный показатель	Оценка показателя
Контроль взятия материала	$>10^5$	нет	кол-во, оптимальное для получения достоверного результата
	10^4-10^5		допустимое кол-во
	$<10^4$		требуется повторное взятие материала
Общая бактериальная масса (ОБМ)	10^6-10^8	нет	нормальный уровень
	$>10^8$		увеличенный уровень
<i>Mycoplasma hominis</i>	$<10^4$	нет	диагностически незначимый уровень
	$>10^4$		диагностически значимый уровень
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	$<10^4$	нет	диагностически незначимый уровень
	$>10^4$		диагностически значимый уровень
<i>Candida spp.</i>	$<10^3$	нет	диагностически незначимый уровень
	$>10^3$		диагностически значимый уровень
НОРМОФЛОРА	Абсолютный показатель	Относительный показатель (Lg_{10} ОБМ - Lg_{10} ЛБ)	Оценка показателя
<i>Lactobacillus spp.</i> (ЛБ)	$>10^6$	0-0,5	нормальный уровень
		0,5-1	умеренно сниженный уровень
		>1	значительно сниженный уровень
	$<10^6$		

УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (УПМ)	Абсолютный* показатель	Относительный показатель (Lg ₁₀ УПМ - Lg ₁₀ ЛБ)	Оценка показателя
Enterobacteriaceae Streptococcus spp. Staphylococcus spp. Gardnerella vaginalis/ Prevotella bivia/ Porphyromonas spp. Eubacterium spp.	>10 ⁴	меньше -3	нормальный уровень
Sneathia spp./Leptotrihia spp./Fusobacterium spp Megasphaera spp./Veilonella spp./Dialister spp. Lachnobacterium spp./Clostridium spp. Mobiluncus spp./Corynebacterium spp. Peptostreptococcus spp. Atopobium vaginae	>10 ⁴	от -3 до -2	слабо увеличенный уровень
		от -2 до -1	умеренно увеличенный уровень
		больше -1	значительно увеличенный уровень

* Абсолютный показатель является ориентировочным, зависит от техники взятия биоматериала и способа выделения ДНК.

Относительный показатель нормобиоты рассчитывается путем вычисления разницы порядков (логарифм - Lg₁₀) между общей бактериальной массой и *Lactobacillus* (ЛБ). Значение Lg₁₀ определяется следующим образом: например, абсолютный показатель общей бактериальной массы составляет 10⁷, значит логарифм (Lg₁₀) этого показателя будет равен 7-ми. В норме разница логарифмов (порядков) ОБМ и ЛБ не должна превышать 0,5, что определяется погрешностью метода.

Умеренно сниженный уровень лактобацилл – если относительный показатель (разница логарифмов/порядков между общей бактериальной массой и лактобациллами) будет от 0,5 до 1.

Значительно сниженный уровень лактобацилл – если относительный показатель (разница логарифмов/порядков между общей бактериальной массой и лактобациллами) будет больше, чем 1.

Чем меньшую долю в общей бактериальной массе составляют лактобациллы, то есть чем больше относительный показатель уровня лактобацилл, тем сильнее угнетена нормальная биота.

Оценка аэробной и анаэробной условно-патогенной микробиоты.

Количественный уровень аэробных и анаэробных условно-патогенных микроорганизмов можно оценить как в абсолютных, так и относительных показателях. Абсолютные значения примерно соответствуют показателям при бактериологических исследованиях. Пример представления результата: абсолютный показатель количества микроорганизма *Gardnerella vaginalis* будет составлять 10³. Относительный показатель уровня того или иного условно-патогенного микроорганизма вычисляется по отношению к количеству *Lactobacillus spp.* По

разнице между Lg₁₀ конкретного микроорганизма и Lg₁₀ лактобацилл аналогично тому, как вычисляется относительный показатель уровня самих лактобацилл по отношению к общей бактериальной массе (ОБМ).

Оценка микоплазм и грибов рода *Candida*.

Количественную оценку уровня микоуреаплазм, а также дрожжеподобных грибов рода *Candida*, проводят только по абсолютным показателям.

Диагностически значимый показатель *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* и *Mycoplasma hominis* составляет 10⁴, дрожжеподобных грибов рода *Candida spp* - 10³.

Состав условно-патогенных микроорганизмов и их количественное соотношение в биоценозе может меняться от состояния нормоценоза до дисбиоза разной степени выраженности и вызванных разными этиологическими причинами. Диагностически значимая оценка состояния биоценоза урогенитального тракта заключается в формулировании характеристик различных его вариантов: от состояния нормоценоза до состояния выраженного дисбиоза.

1. Норма

Состояние нормоценоза характеризуется следующими показателями (см. таблицу 3):

- 1. Общая бактериальная масса** имеет нормальный уровень (абсолютный показатель -10⁶-10⁸)
- 2. Нормофлора (*Lactobacillus spp*)** имеет нормальный уровень (абсолютный показатель >10⁶, относительный показатель – от 0 до 0,5).
- 3. Аэробные и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы** не превышают нормальный уровень (абсолютный показатель <10⁴, относительный показатель - <-3), единичные представители УПМ могут иметь слабо увеличенный уровень (относительный показатель от -3 до -2).
- 4. Микоплазмы - *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma (urealiticum+parvum)*** отсутствуют или присутствуют в количествах, не имеющих диагностического значения (абсолютный показатель < 10⁴).
- 5. Грибы рода *Candida*** - отсутствуют или присутствуют в количествах, не имеющих диагностического значения (абсолютный показатель < 10³).

2. Дисбаланс I (умеренный).

Состояние умеренного дисбиоза характеризуется следующими показателями (см. таблицу 3):

- 1. Общая бактериальная масса** имеет нормальный уровень (абсолютный показатель -10⁶-10⁸).
- 2. Нормофлора (*Lactobacillus spp*)** имеет нормальный или умеренно сниженный уровень (абсолютный показатель >10⁶, относительный показатель – от 0,5 до 1).
- 3. Аэробные и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы:** часть условно-патогенной биоты имеет слабо и умеренно увеличенный уровень (абсолютный показатель >10⁴, относительный показатель – от -3 до -1).
- 4. Микоплазмы: *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma (urealiticum + parvum)*** могут присутствовать в количествах, имеющих диагностическое значение (абсолютный показатель > 10⁴).
- 5. Грибы рода *Candida spp.*** могут присутствовать в количествах, имеющих диагностическое значение (абсолютный показатель > 10³).

3. Дисбаланс II (выраженный).

Состояние выраженного дисбиоза характеризуется следующими показателями (см. таблицу 3):

1. Общая бактериальная масса может иметь нормальный (абсолютный показатель 10^6-10^8), увеличенный (абсолютный показатель $>10^9$) или сниженный уровень (абсолютный показатель $<10^5$).

2. Нормофлора (*Lactobacillus spp*) количество может варьировать от полного отсутствия лактобацилл до нормального их уровня.

3. Аэробные и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы - большая часть условно-патогенной биоты имеет умеренно увеличенный (абсолютный показатель $>10^4$, относительный показатель - от -2 до -1) или значительно увеличенный уровень (абсолютный показатель $>10^4$, относительный показатель - больше, чем -1).

4. Микоплазмы: *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma (urealiticum + parvum)* могут присутствовать в количествах, имеющих диагностическое значение (абсолютный показатель $>10^4$).

5. Грибы рода Candida spp. могут присутствовать в количествах, имеющих диагностическое значение (абсолютный показатель $> 10^3$)

Диагностическое значение имеет также определение **этиологической структуры** выявленного дисбаланса. Набор реагентов «Фемофлор» позволяет определить, какие группы условно-патогенных микроорганизмов преимущественно вызывают дисбаланс. В соответствии с этиологической причиной дисбаланс может быть аэробным, анаэробным или смешанным.

Анаэробный – дисбаланс, вызванный анаэробными микроорганизмами: *Gardnerella vaginalis* /*Prevotella bivia*/*Porphyromonas spp*; *Atopobium vaginae*; *Eubacterium spp*; *Sneathia spp* /*Leptotrihia spp*/*Fusobacterium spp*; *Megasphaera spp*/*Veilonella spp*/*Dialister spp*; *Lachnobacterium spp*/*Clostridium spp*; *Mobiluncus spp*/*Corynebacterium spp*; *Peptostreptococcus spp*. Уровень **анаэробных условно-патогенных микроорганизмов** соответствует умеренному (I) или выраженному (II) дисбалансу.

Аэробные условно-патогенные микроорганизмы не превышают нормальный уровень (абсолютный показатель $<10^4$, относительный показатель <-3), единичные представители УПМ могут иметь слабо увеличенный уровень (относительный показатель от -2 до -3).

Аэробный – дисбаланс, вызванный аэробными микроорганизмами: *Enterobacteraceae*, *Streptococcus spp* и *Staphylococcus spp*. **Уровень аэробных условно-патогенных микроорганизмов** соответствует умеренному (I) или выраженному (II) дисбалансу.

Анаэробные условно-патогенные микроорганизмы не превышают нормальный уровень (абсолютный показатель $<10^4$, относительный показатель <-3), единичные представители УПМ могут иметь слабо увеличенный уровень (относительный показатель от -2 до -3).

Смешанный - дисбаланс, вызванный любым сочетанием показателей умеренного или выраженного дисбаланса одновременно для аэробной, анаэробной флоры, а также микоплазм и грибов рода кандиды в диагностически значимых количествах (см. таблицу 3).

Кандидоз - инфекционный процесс, вызванный только грибами рода *Candida spp* в диагностически значимых количествах, Уровень нормофлоры, аэробных и анаэробных условно-патогенных микроорганизмов соответствует норме (см. таблицу 3).

Клинико-лабораторные подходы к диагностике урогенитальных заболеваний у женщин

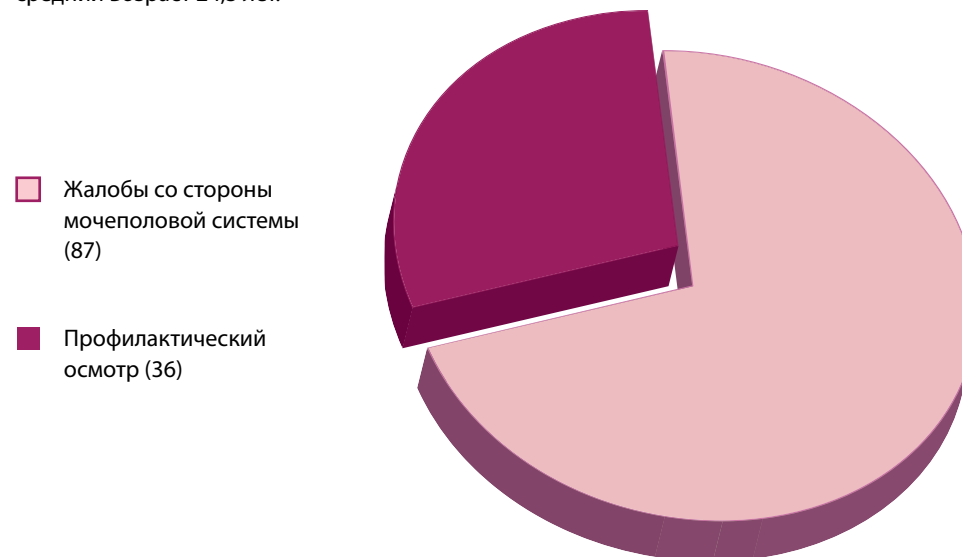
репродуктивного возраста, изложенные выше, были нами использованы при обследовании 123 (100%) женщин, обратившихся в ГУЗ СВАО КВД № 19 г. Москвы. Возраст женщин колебался от 18 до 45 лет, в среднем составил 24,3 года. Критерии включения в группу исследования были следующие: возраст от 18 до 45 лет, отсутствие заболеваний, вызванных облигатными патогенами: сифилис, ВИЧ, гепатит В, С. Критерии исключения: возраст до 18 лет и более 45 лет, наличие заболеваний, вызванных облигатными патогенами: сифилис, ВИЧ, гепатит В, С, беременность или лактация, соматические заболевания в стадии декомпенсации, эндокринопатии, онкологические заболевания, системное применение гормональных контрацептивных средств, а также антибактериальных препаратов в последние 2 месяца, использование местных лекарственных препаратов в течение трех недель, предшествующих обследованию, а также наличие внутриматочных контрацептивов.

Было установлено, что большинство женщин 87 (70,7%) обратились разнообразными жалобами со стороны урогенитального тракта, с целью профилактического осмотра - 36 (29,3%) (График № 1).

Анализ клинико-анамнестических данных позволил установить диагноз острого течения инфекционно-воспалительного процесса у 29 (23,6%) женщин, хронический воспалительный процесс в стадии обострения у 61 (49,6%), хронический воспалительный процесс вне стадии обострения у 16 (13,0%) пациенток. Соответственно в группе обследованных больных превалировала хроническая форма течения инфекционно-воспалительного процесса (77; 62,6%).

График № 1

Материалы исследования: обследовано 123 женщины, в возрасте от 18 до 45 лет, средний возраст 24,3 лет.



Все пациентки 123(100%) были разделены на три группы:

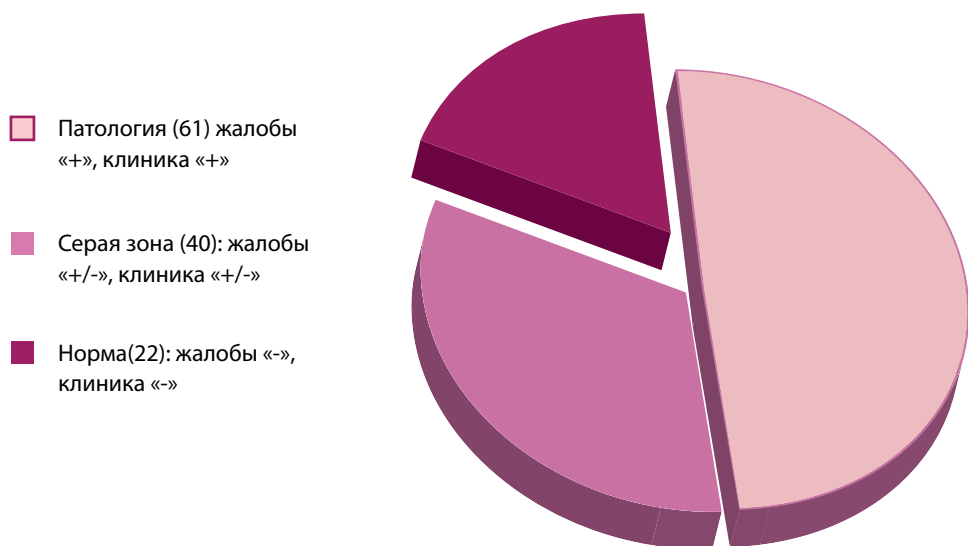
- I-ая группа 61(49,59%) –«патология»;
- II-ая группа 40(32,53%) – «серая зона»;
- III-я группа 22(17,88%) – «норма».

I-ю группу «патологии» составили женщины, имеющие субъективную и/или объективную клиническую картину. II-ю группу «серой зоны» составили женщины, которые предъявляли жалобы, но клиническая объективная картина отсутствовала, либо пациентки жалоб не предъявляли, а объективная клиническая симптоматика присутствовала. III-ю группу «нормы» составили женщины, не имеющие субъективной и/или объективной клинической симптоматики (График 2).

При обследовании жалобы со стороны урогенитального тракта (выделения, неприятный запах из влагалища, зуд и/или жжение наружных половых органов) предъявляли 87 (70,73%) женщин. Преимущественно жалобы были на выделения (75; 69,9%), из них преобладали незначительные (41; 33,3%) и умеренные (24;19,5%). При этом основная часть пациенток расценивала незначительные или умеренные выделения из влагалища как вариант физиологической нормы. Выраженные выделения из влагалища, мотивировавшие обращение женщин в лечебное учреждение наблюдались только у 10 (18,1%).

График № 2.

Распределение больных по группам (123;100%) в зависимости от наличия и степени выраженности клинических симптомов.



В результате клинического объективного обследования было установлено, что наиболее часто воспалительный процесс локализовался в области эндоцервикального канала (29; 23,6%), значительно реже во влагалище (11; 8,9%) и уретре (1; 0,8%). Заслуживает внимание тот факт, что во многих случаях в инфекционно-воспалительный процесс одновременно было вовлечено 2-3 очага инфицирования (34; 27,6%). Почти у половины (62; 50,4%) женщин патологический процесс представлен незначительными признаками воспаления мочеполовой системы, умеренная степень воспаления у 11 (8,9%), выраженная у 2 (1,6%) пациенток (График № 3).

На основании комплексного клинико-лабораторного обследования 123 (100%) женщин облигатные патогены были обнаружены у 71 (57,7%) женщин, из которых объективные и/или субъективные жалобы со стороны мочеполовой системы предъявляли 62 (50,4%). Только 9 (7,31%) женщин не предъявляли жалоб и не имели клинической симптоматики. Анализ полученных результатов продемонстрировал, что инфекционные агенты урогенитального тракта женщин преимущественно были представлены вирусами (папилломовирусная, герпетическая, цитомегаловирусная инфекция) (52;42,3%), облигатные бактериальные патогены и простейшие (хламидии, трихомонады, гонококки, микоплазмы) идентифицированы у незначительного числа больных (5;4,1%), сочетание вирусов и бактерий обнаружено почти у каждой десятой женщины (14;11,3%), почти у половины пациенток облигатные патогены не были выявлены (52;42,3%) (График № 4).

График № 3.

Распределение больных в зависимости от топике и степени выраженности поражения, 123,100%

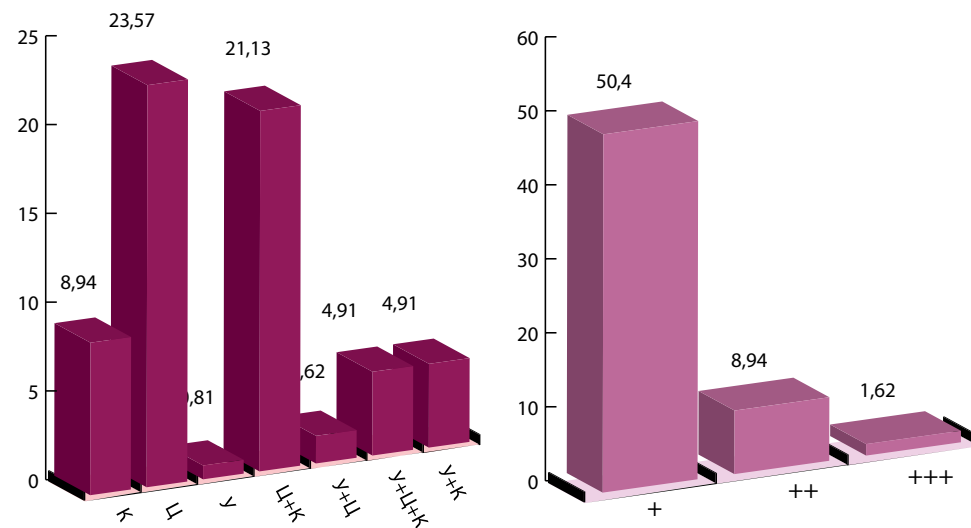
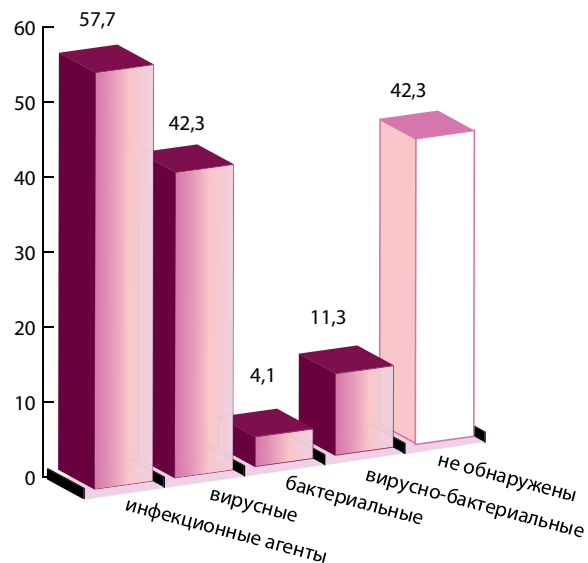


График № 4

Выявление облигатных патогенов в группе обследованных больных (123; 100%)

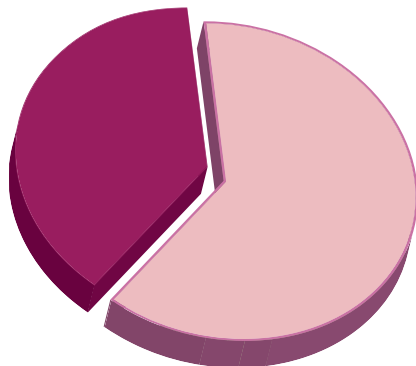


При обследовании женщин, имевших субъективную и/или объективную клиническую симптоматику (101; 100%) - группа «патологии» и «серой зоны», облигатные патогены были выявлены у 62 (61,4%). Очевидно, что более чем у трети пациенток (39;38,6%) инфекционно-воспалительный процесс был вызван только ассоциацией условно-патогенных микроорганизмов (График № 5).

График № 5.

Этиологическая структура воспалительного процесса в группах патология и серая зона (101; 100%)

- облигатные патогены (61,4)
- условно-патогенная биота (38,6)

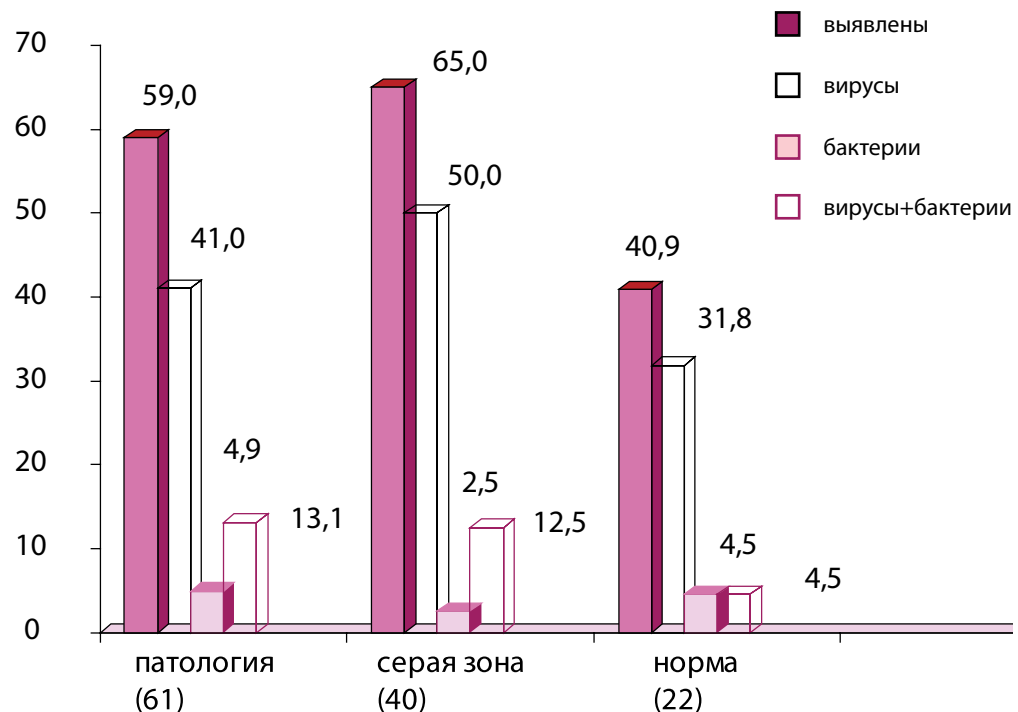


В группе «патологии» более чем у половины женщин (36; 59,0%) были обнаружены инфекционные агенты, из них преимущественно вирусы (25;41,0%) - вирус папилломы человека, вирус герпеса, цитомегалии, патогены бактериальной природы - у 3 (4,8%), сочетание вирусов и бактерий у 8 (13,1%).

В группе «серой зоны» облигатные патогены были выявлены у 26 (65,0%) женщины, из них вирусы у 20 (50,0%), бактерии и простейшие у 1(2,5%), бактериально-вирусные инфекции у 5 (12,5%).

В группе «нормы» при отсутствии клинической симптоматики почти у половины женщин (9;40,9%) были обнаружены облигатные патогены: вирусы у 7 (31,8%), бактерии и простейшие у 1 (4,5%), сочетание вирусов и бактерий у 1 (4,5%). Обнаружение облигатных патогенов в группах «патологии», «серой зоны» и «нормы» не имело статистически значимых различий (График № 6), что свидетельствует о целесообразности комплексного лабораторного обследования на инфекции, передаваемые половым путем, вне зависимости от степени выраженности клинической симптоматики.

График № 6.



Установлено, что при обнаружении облигатных патогенов во влагалище, последние были выявлены и в других отделах мочеполовой системы (уретра, цервикальный канал шейки матки, ампула прямой кишки) у 40 (32,5%). Одновременное выявление инфекционных агентов или их отсутствие как в отделяемом влагалища, так и в других отделах мочеполовой системы регистрировалось в 74,8% (n=92). Особого внимания заслуживают пациентки (31; 25,2%), у которых при отсутствии инфекционного агента в отделяемом влагалища, он был выявлен в уретре и/или цервикальном канале шейки матки и/или ампуле прямой кишки. Данный факт свидетельствует о необходимости исследования отделяемого всех возможных отделов инфицирования мочеполовой системы, в противном случае почти у четверти женщин (31; 25,2%) инфекционный агент не будет обнаружен и, соответственно, пациентка не получит своевременного лечения (График № 7).

Практически аналогичные результаты мы получили при изучении качественного и количественного состава биоты урогенитального тракта женщин с помощью тест-системы «Фемофлор» (НПФ «ДНК – Технология»). При обследовании 86 (100%) женщин с урогенитальными инфекциями, ассоциированными с условно-патогенной биотой, было обнаружено, что при выявлении дисбаланса в отделяемом влагалища, он одновременно выявлялся в уретре и/или эндоцервикальном канале шейки матки у 62 (72,1%) женщин. Почти у трети (24; 27,9%) женщин дисбаланс выявлялся в уретре и/или эндоцервикальном канале шейки матки при нормальном значении биоты во влагалище (График № 8), что, в свою очередь, также свидетельствует о необходимости лабораторного обследования всех возможных отделов инфицирования.

График № 7

Выявление патогенов в различных отделах мочеполовой системы женщин (123; 100%), %

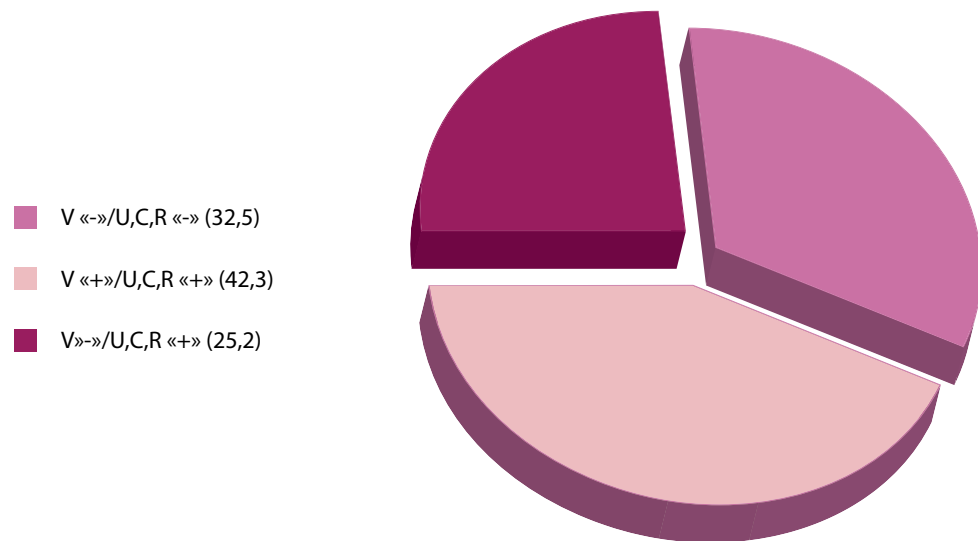
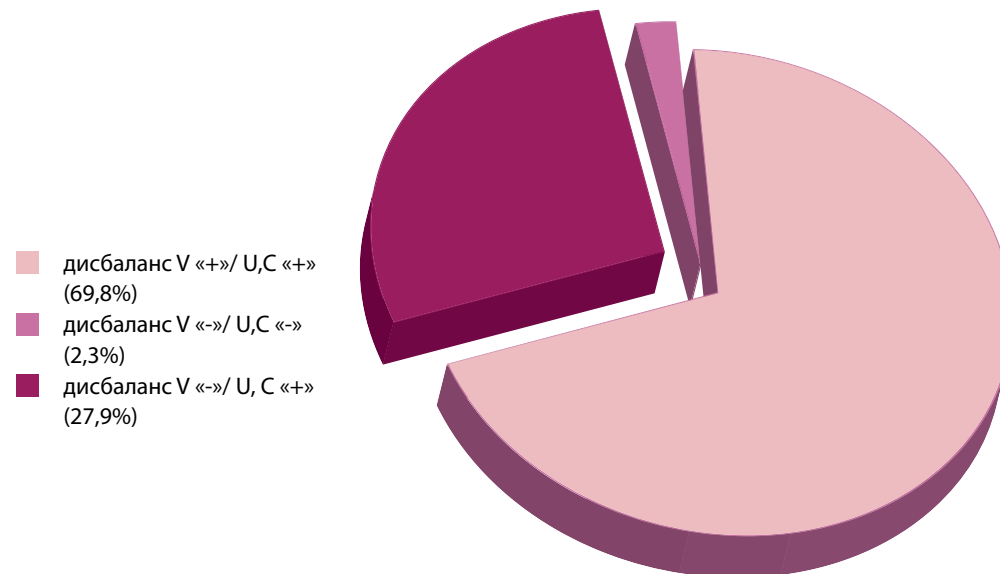


График № 8.

Выявление дисбаланса (Фемофлор) в различных отделах мочеполовой системы женщины (86; 100%); %



При микроскопическом исследовании в группе «патологии» лейкоцитоз был выявлен у 34 (55,7%) женщины, снижение количества лактобактерий у 38 (62,3%), обильное количество коккобациллярной биоты у 41 (67,2%), наличие ключевых клеток у 6(9,8%). Тест с КОН был положительным в 10 (16,4%), а pH больше 4,5 в 55 (90,1%) случаях.

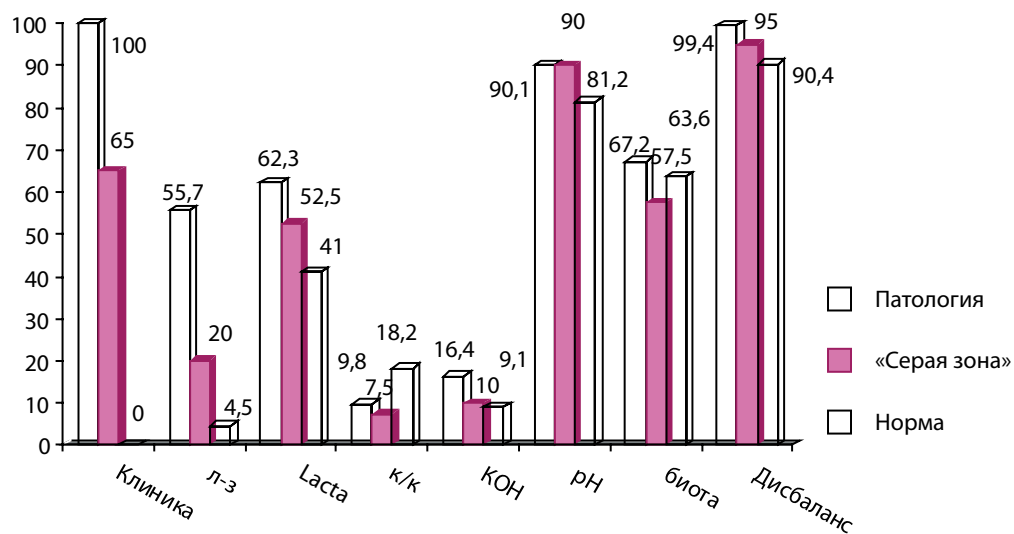
В группе «серой зоны» при микроскопическом исследовании: лейкоцитоз у 8 (20,0%), значительное снижение количества лактоморфотипов у 21 (52,5%), значительное количество условно-патогенной биоты у 23 (57,5%), обнаружены ключевые клетки у 3 (7,5%). Положительный тест с КОН у 4 (10,0%), pH больше 4,5 у 36 (90,0%) пациенток.

При микроскопическом исследовании в группе «нормы»: лейкоцитоз у 1 (4,5%), значительное снижение количества лактобактерий у 9 (41,0%), обильное количество условно-патогенной биоты у 14 (63,6%), ключевые клетки обнаружены у 4 (18,2%). Положительный тест с КОН у 2 (9,1%), pH больше 4,5 у 18 (81,2%) пациенток.

Как видно из графика № 9, наиболее информативными критериями дисбаланса биоты урогенитального тракта являются: 1) снижение количества лактоморфотипов (незначительно или скудно); 2) повышение pH более 4,5; 3) увеличение количества коккобациллярной биоты (обильно, значительно).

График № 9.

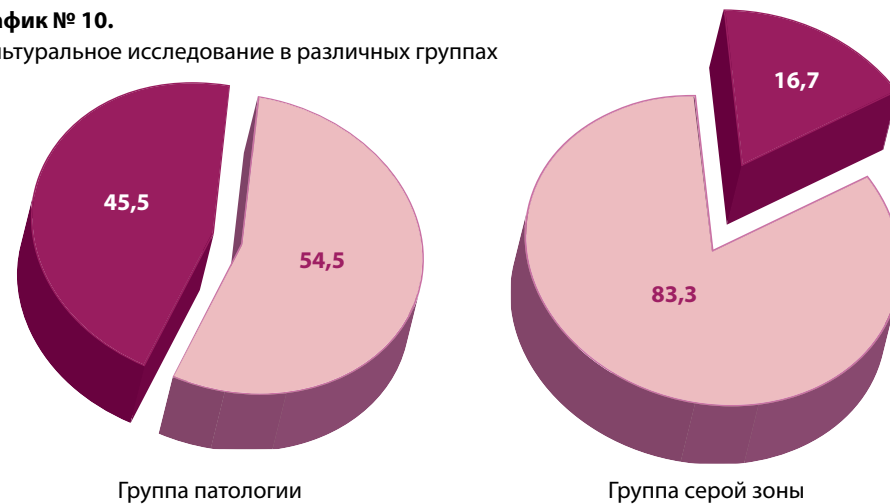
Результаты микроскопического исследования мазков, окрашенных по Граму и PCR RT (Фемофлор, ДНК-Технология) в различных группах пациентов (n=1 23; 100%), %



Обращает на себя внимание тот факт, что при использовании метода культуральной диагностики в группе «серой зоны» рост условно-патогенные микроорганизмы в диагностически значимых титрах был получен в 16,7%, при этом в подавляющем большинстве выделялись аэробные бактерии. В 83,3% случаев при наличии клинической симптоматики дисбаланса биоты урогенитального в культуре роста колоний микроорганизмов не было получено. В группе «патологии» при наличии субъективной и объективной клинической симптоматики условно-патогенные микроорганизмы были выделены в диагностически значимых титрах в 54,5% случаев, рост колоний отсутствовал – в 45,5%. В этой связи необходимо отметить, что низкая чувствительность культурального исследования, зависимость результата от качества выполнения преаналитического этапа лабораторного исследования, профессиональная квалификация исследователя, отсутствие объективного контроля качества получения биопробы, необходимость в специализированной лаборатории для выращивания анаэробных микроорганизмов и т.д. являются проблемой культуральной диагностики урогенитальных заболеваний, обусловленных условно-патогенной биотой (График № 10).

График № 10.

Культуральное исследование в различных группах



При использовании тест-системы Фемофлор дисбаланс урогенитального тракта был выявлен в группе «патологии» в 99,4%, в группе «серой зоны» в 95%, в группе «нормы» в 90,4%. Анализ этиологической структуры выявленного дисбаланса продемонстрировал превалирование смешанных форм (аэробно-анаэробные, бактериально-грибковые) – 79,7%, значительно реже регистрируется дисбаланс аэробной (7,3%) и анаэробной этиологии (13,0%) (График № 11).

Очевидно, выбор лекарственной терапии зависит от этиологической структуры дисбаланса и степени его выраженности. При выявлении смешанного дисбаланса, необходимо проводить терапию антибактериальными и 5-нитроимидазольными препаратами.

График № 11.

Результаты PCR RT (ДНК-технология). Фемофлор (n= 123;100%)

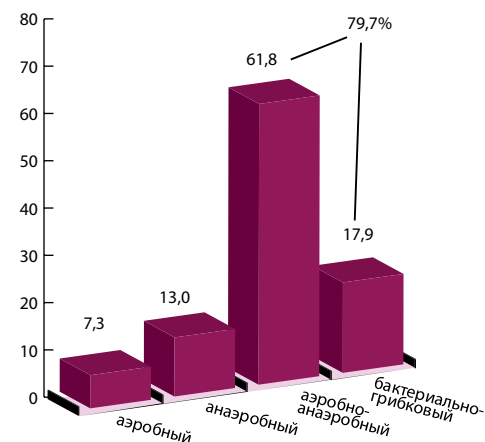
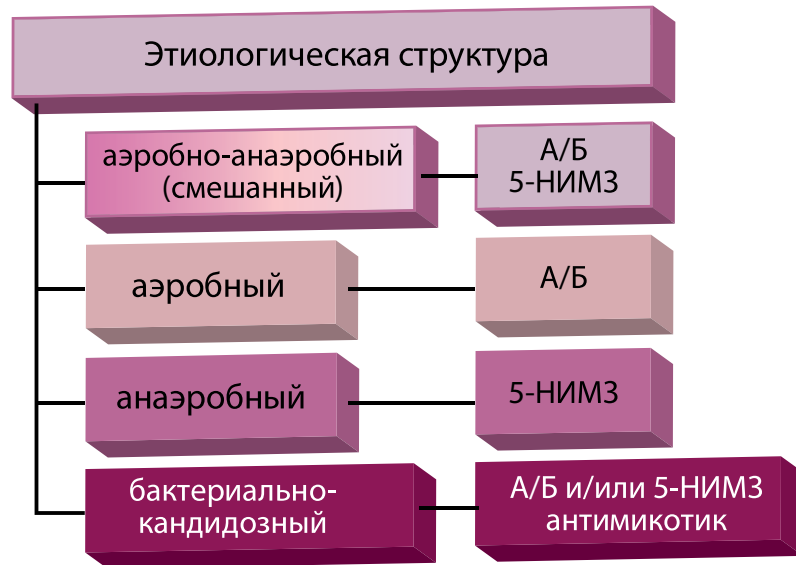


Схема № 1.



При аэробной этиологии – антибактериальными средствами, анаэробной – 5-нитроимидазольными, при бактериально-кандидозном дисбалансе целесообразно назначать антибактериальные и/или 5-нитроимидазольные препараты в сочетании с антимикотиками (Схема № 1).

Таким образом, использование новой диагностической тест-системы «Фемофлор» достоверно выявляет дисбаланс (99,4%) в группе пациенток, имеющих клинические симптомы уrogenитальных заболеваний (группа «патологии»). В группе женщин с неясной клинической симптоматикой, т.е. в тех случаях, когда на основании стандартных клинико-лабораторных методов исследования не удается убедительно диагностировать наличие заболевания или отнести женщину в группу практически здоровых, применение тест-системы «Фемофлор» позволяет дифференцировать ранние стадии развития дисбаланса и состояние физиологической нормы для конкретной пациентки в период обследования. Диагностика дисбаланса биоты уrogenитального тракта на ранних стадиях способствует оптимизации и минимизации лекарственной терапии. Установление состояния физиологической нормы предупреждает необоснованную лекарственную терапию. Являясь высокочувствительным диагностическим инструментом, тест-система «Фемофлор» позволяет своевременно выявлять заболевание в группе женщин, не имеющих выраженных клинических симптомов уrogenитальных инфекций,

относящих себя к группе практически здоровых и обращающихся в лечебные учреждения с профилактической целью (90,4%). Данный факт подтверждается выявлением облигатных патогенных микроорганизмов у 40,9% женщин, первоначально отнесенных в группу «нормы» на основании клинического обследования.

Очевидно, наибольшее практическое значение тест-система «Фемофлор» имеет в случаях стертого или бессимптомного течения уrogenитальных инфекций.

Кроме того, с помощью данной тест-системы появляется возможность одновременного выявления полной этиологической структуры заболевания и, соответственно, назначение направленной этиотропной терапии.

Впервые в предложенный диагностический метод заложен критерий контроля взятия клинического образца для исследования.

Вопросы клинической интерпретации результатов, полученных с использованием тест-системы «Фемофлор» окончательно не решены и требуют дальнейших клинико-лабораторных сопоставлений.

В пособии описан принципиально новый подход к исследованию условно-патогенной флоры, основанный на комплексной оценке основных групп микроорганизмов, формирующих урогенитальный биоценоз, методом ПЦР в режиме реального времени. Предлагаемый подход дает возможность количественно исследовать нормофлору, наличие, степень и характер дисбаланса условно-патогенной и нормальной флоры, что позволяет в случае необходимости выбрать правильную терапию и контролировать эффективность её проведения.

Настоящее пособие предназначено для практических врачей (акушеров-гинекологов, дерматовенерологов, урологов), врачей клинической лабораторной диагностики и других специалистов.

Пособие направлено на совершенствование лабораторной диагностики при исследовании условно-патогенной флоры урогенитального тракта.

Авторы:

Липова Елена Валерьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая курсом лабораторной диагностики и лабораторной микологии при кафедре дерматовенерологии и клинической микологии ГОУ ДПО РМАПО, г.Москва

Болдырева Маргарита Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник ГНЦ Института иммунологии ФМБА России, г.Москва

Трофимов Дмитрий Юрьевич, кандидат биологических наук, генеральный директор «НПФ ДНК-Технология» г. Москва

Витвицкая Юлия Геннадиевна, аспирант кафедры дерматовенерологии и клинической микологии ГОУ ДПО РМАПО, г.Москва

ДНК-Технология, Москва, Каширское шоссе, д. 23, корп.5, офис 16
тел./факс: (495) 980-45-55
mail@dna-technology.ru
www.dna-technology.ru