

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РФ

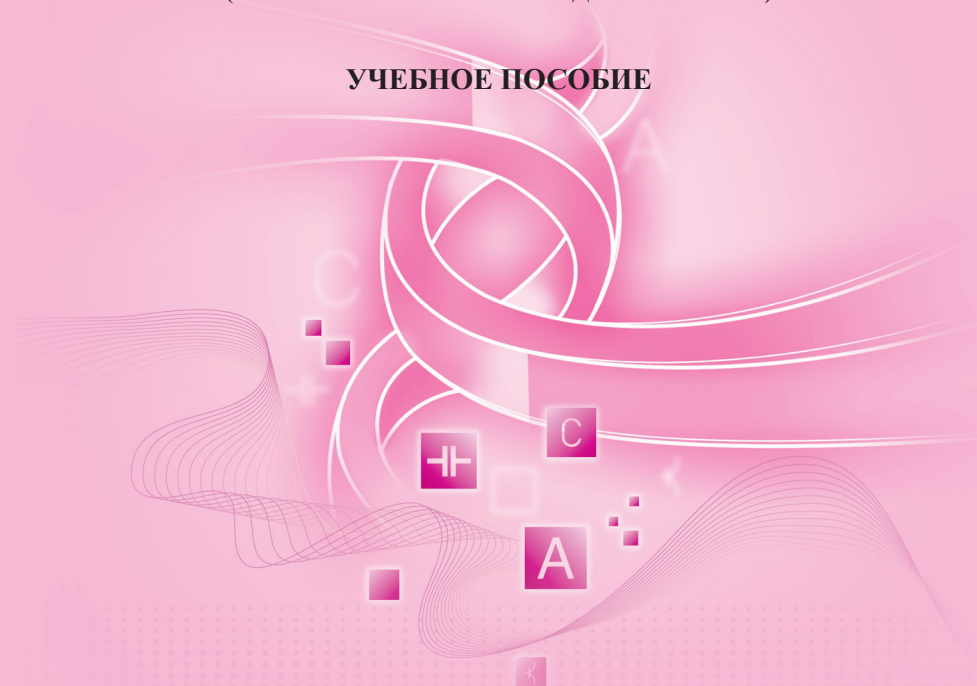
**ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

Е.В. Липова, М.Н. Болдырева, Д.Ю. Трофимов, Ю.Г. Витвицкая, И.Ю. Чухриенко, М.А. Мирзоянц

**УРОГЕНИТАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ,
ОБУСЛОВЛЕННЫЕ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ БИОТОЙ,
У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА
(КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА)**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ



МОСКВА, 2009

ISBN 978-5-7249-1369-0



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РФ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе
и международному сотрудничеству,
профессор Ф.Е.Вартамян

" 19 "

2009г.



**УРОГЕНИТАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ,
ОБУСЛОВЛЕННЫЕ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ БИОТОЙ,
У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА
(КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА)**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

МОСКВА, 2009

УТВЕРЖДЕНО
На Ученом Совете
ГОУ ДПО РМАПО

протокол №

« 16 » июля 2009 г.

Ученый секретарь РМАПО

проф. Савченко Л.М.



УТВЕРЖДЕНО
На Ученом Совете
терапевтического факультета
ГОУ ДПО РМАПО

протокол №

« 5 » июля 2009 г.

Декан терапевтического факультета

проф. К.А.Саркисов

АННОТАЦИЯ

В учебном пособии изложены особенности течения урогенитальных инфекций, обусловленных условно-патогенной биотой, рассмотрены стандартные методы лабораторной диагностики, представлены результаты собственных исследований с использованием новой лабораторной методологии, основанной на ПЦР (полимеразная цепная реакция) в реальном времени, позволяющей определить не только качественный, но и количественный состав биоты в абсолютных и относительных величинах. Проведена сравнительная характеристика эффективности стандартных методов диагностики и разработанной тест-системы «Фемофлор» (полимеразная цепная реакция в реальном времени), определены критерии, этиологическая структура и степень выраженности дисбаланса биоты урогенитального тракта у женщин. Даны рекомендации по проведению направленной адекватной терапии. Использование тест-системы «Фемофлор» рекомендуется при трудностях выявления этиологически значимых микроорганизмов стандартными методами лабораторной диагностики у пациентов при наличии клинической симптоматики, при планировании беременности и подготовке к экстракорпоральному оплодотворению, невынашиваемости беременности, а также перед планируемым оперативным вмешательством на внутренних половых органах.

Учебное пособие предназначено для дерматовенерологов, акушеров-гинекологов, врачей клинической лабораторной диагностики и может быть использовано в кожно-венерологических диспансерах, женских консультациях и диагностических лабораториях дерматовенерологической и акушерско-гинекологической служб.

Учебное пособие подготовлено:

Липовой Еленой Валериевной — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микологии ГОУ ДПО РМАПО, г. Москва;

Болдыревой Маргаритой Николаевной — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник ГНЦ Института иммунологии ФМБА России, г. Москва;

Трофимовым Дмитрием Юрьевичем — доктор биологических наук, генеральный директор ЗАО "НПФ ДНК-Технология", г. Москва;

Витвицкой Юлией Геннадьевной — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры микологии ГОУ ДПО РМАПО, г. Москва;

Чухриенко Ириной Юрьевной — главный врач УЗ СВАО КВД 19, г. Москва;

Мирзоянц Мариной Арамовной — старший лаборант кафедры микологии ГОУ ДПО РМАПО, г. Москва.

ВВЕДЕНИЕ

I. Введение

В настоящее время отмечается незначительная тенденция к снижению заболеваемости бактериальными инфекциями, передаваемыми половым путем (ИППП), в отличие от вирусных инфекций, показатели заболеваемости которыми имеют по данным как отечественных, так и зарубежных авторов, неуклонную тенденцию к росту. Данные официального статистического учета не всегда соответствуют фактическим показателям заболеваемости ИППП в силу как объективных, так и субъективных причин. К последним наиболее часто относят отсутствие качественных реагентов, тест-систем, недостаточную оснащенность современным лабораторным оборудованием, коммерциализацию, самолечение и др.

Как известно, этиологический диагноз ИППП устанавливается только на основании результатов лабораторных исследований, регламентированных нормативными документами МЗ и СР РФ, соответственно, показатели заболеваемости в значительной степени определяются качеством лабораторных исследований. На всех этапах их проведения существует вероятность диагностических ошибок (каждый метод *a priori* имеет допустимый процент ошибки), обусловленная как объективными, так и субъективными причинами, в том числе профессиональной квалификацией врача клинической лабораторной диагностики.

В соответствии с Международной классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (10-я редакция), уреаплазмоз, микоплазмоз (за исключением *Mycoplasma genitalium*, этиологическая роль которого в настоящее время активно изучается как отечественными, так и зарубежными исследователями), бактериальный вагиноз и урогенитальный кандидоз выведены из числа инфекций, передаваемых половым путем. В связи с этим, начиная с 1999 года, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, урогенитальные заболевания, ассоциированные с данными микроорганизмами, исключены Минздравом РФ из ежегодного статистического отчета, поэтому официальных показателей заболеваемости по этим нозологиям с 1999 года в России нет. Анализ показателей заболеваемости за пятилетний период до 1999 года продемонстрировал увеличение заболеваемости уреаплазмозом в 3,9 раза, бактериальным вагинозом – в 4,8 раз, урогенитальным кандидозом – в 3,2 раза по сравнению с предыдущими периодами. Удельный вес уреаплазмоза в структуре ИППП составил к

1998 году 7,0%, урогенитального кандидоза — 17,8%, удельный вес бактериального вагиноза увеличился в 3 раза.

По данным многочисленных исследований как отечественных, так и зарубежных авторов, биота урогенитального тракта представлена в основном микробиотой (бактериальные микроорганизмы), микобиотой (различные представители грибов), а также вирусами и простейшими, совокупность которых обеспечивает колонизационную резистентность. Дисбаланс биоты урогенитального тракта женщин представляет нарушение количественно-качественных взаимоотношений резидентных микроорганизмов – сапрофитных и условно-патогенных, населяющих мочеполовую систему в норме. Развитие дисбаланса биоты урогенитального тракта может сопровождаться метаболическими, иммунными нарушениями и в ряде случаев клиническими проявлениями, степень выраженности которых может варьировать от бессимптомного носительства до выраженной клинической манифестации. В свете подобного рассмотрения понятий нормобиоты и дисбаланса урогенитального тракта такие нозологии как бактериальный вагиноз, урогенитальный кандидоз, заболевания, ассоциированные с микоплазмой, могут являться частными проявлениями дисбаланса биоты в целом.

Многочисленные исследования доказали, что этиологическая структура урогенитальных инфекций, обусловленных условно-патогенной биотой, как правило, представлена ассоциацией нескольких микроорганизмов. Клиническая картина, в свою очередь, характеризуется стертым, малосимптомным течением, отсутствием специфических клинических симптомов, склонностью к хронизации и многоочаговости инфицирования, что неизбежно приводит к поздней обращаемости, нередко уже на стадии развития осложнений со стороны репродуктивной системы. Результаты наших собственных исследований показали, что почти в 50% случаев на первичном приеме диагностируется осложненное течение урогенитальных инфекций у женщин. Все вышесказанное позволяет рассматривать проблему урогенитальных инфекций, ассоциированных с условно-патогенной биотой, как актуальную, имеющую важное медико-социальное значение.

Квалифицированное клиническое обследование, с учетом многоочаговости инфицирования, стертой клинической симптоматики, риска осложнений, с одной стороны, и с другой – возможность выявления полной этиологической структуры инфекционно-воспалительного процесса позволяют оптимизировать, минимизировать и индивидуализировать терапию, то есть проводить адекватное, этиологически направленное лечение с учетом принципа «необходимости и достаточности».

В настоящее время для установления диагноза используют традиционные методы клинической и лабораторной диагностики. Клиническое обследование направлено на выявление жалоб, объективных клинических симптомов воспаления, получение результатов бимануального исследования. Другими словами клинический диагноз подразумевает установление формы течения заболевания, топика процесса, наличия или отсутствия осложнений.

Этиологически значимые инфекционные агенты выявляются с помощью методов лабораторного исследования. Традиционно лабораторное исследование включает микро-

скопию нативных и окрашенных метиленовым синим и по Граму препаратов, культуральное исследование (5% кровяной агар, среда Эндо, жидкие и твердые среды Сабуро).

Стремительное развитие лабораторных технологий в последние десятилетия привело к внедрению в практическое здравоохранение метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов по окончании реакции (по конечной точке), который, не являясь количественным, используется преимущественно для обнаружения облигатных патогенов. Выявление таким способом условно-патогенных микроорганизмов не имеет диагностического значения. Разработаны тест-системы ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с количественной характеристикой отдельных (до 5) условно-патогенных микроорганизмов. Однако, при патологических изменениях количественная характеристика ограниченного числа условно-патогенных микроорганизмов, не позволяет учитывать количественно-качественные взаимоотношения микроорганизмов (более 100 видов) которые могут участвовать в патологическом процессе, что делает невозможным достоверное установление этиологического значения последних и дифференцирования состояния нормобиоты и дисбаланса и, соответственно, решение вопроса о необходимости лекарственного воздействия.

Некорректно поставленный клинический и/или этиологический диагноз, неизбежно приводят или к полипрагмазии или к неадекватной терапии (недостаточные суточные и/или курсовые дозы лекарственных препаратов), что, в свою очередь, вызывает или различного рода ятрогении или увеличивает риск рецидивов, хронизации, формирования осложнений с нарушением репродуктивной функции.

II. Показания и противопоказания к применению метода

Показания:

- Наличие субъективных и/или объективных симптомов, связанных с урогенитальным трактом, у женщин репродуктивного возраста вне беременности
- Планирование беременности
- Репродуктивные потери
- Подготовка к экстракорпоральному оплодотворению
- Планируемое оперативное вмешательство в области малого таза

Противопоказания отсутствуют.

III. 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, ООО «НПО ДНК-Технология», (г.Москва) – ФСР 2007/01250 ТУ9443002-96301278-2007 (ФС 022а1571/5197-06 ТУ 9443-007-46482062-2005).

5. Центрифуга MiniSpin, Германия, Eppendorf AG – № 2002/637.
 6. Термостат твердотельный программируемый ТТ-1-«ДНК-Техн.» Россия, ООО «НПО ДНК-Технология», (г. Москва) –ФС022а4004/5 199–06 ТУ 9452–46482062–2002.
 7. Центрифуга “Фуга/вортекс Микро-Спин FV-2400», Латвия, SIA «Biosan”, ФС №2005.518.
 8. Дозатор механический типа «V3» в комплекте с наконечниками и стенд-штативом, Польша, High Tech Lab S.A., ФС №2001/703
 9. Пробирки конические объемом 1,5 мл типа Эппендорф, США, SSI (Scientific Specialties Inc.), ФС №2006/776.
 10. Наконечники для дозаторов с фильтром объемом 1–20 мкл; 1–50 мкл; 1–200 мкл; 100 1000 мкл; США, SSI (Scientific Specialties Inc.), ФС №2006/776.
 11. Набор реагентов «Фемофлор», Россия, ООО «НПО ДНК-Технология», (г. Москва).
 12. Наборы реагентов для ДНК-диагностики инфекций, ассоциированных с заболеваниями мочеполовой системы с детекцией результатов по окончании реакции: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, а также *Cytomegalovirus (CMV)*, *Herpes Simplex virus (HSV1,2)*, *Human Papilloma virus* высокого онкогенного риска (HPV ВОР) – типы 16,18,31,33,35,35, 39,45,52,58, 59, 67
- Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям МУ 1.3. 2569 –09.

IV. Описание метода

С целью повышения эффективности диагностики урогенитальных инфекций, в том числе обусловленных условно-патогенными микроорганизмами, наряду со стандартными методологиями клинико-лабораторного обследования, включая ПЦР (с детекцией результатов по конечной точке) предлагается новый способ диагностики, основанный на методе ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием тест-системы «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-Технология”).

В основу способа положена комплексная количественная оценка биоты некультивационным методом 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 условно-патогенных микроорганизмов в его развитии при условии контроля качества получения клинического образца для исследования.

На данный способ получен патент на изобретение:

1) № 2362808 от 13.02. 2008

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

Обследование женщин репродуктивного возраста вне беременности на урогенитальные инфекции, обусловленные условно-патогенной биотой, складывается из опроса, субъективного и объективного обследования, включающего бимануальное исследование, а также результатов комплексного лабораторного анализа.

Метод клинической диагностики включает выяснение и анализ жалоб, сбор анам-

неза, объективный осмотр, бимануальное исследование пациентки. Клинический диагноз отражает форму течения заболевания, топик патологического процесса, 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 инфекций, а также превалирования в структуре инфекционно-воспалительных процессов малосимптомных и «стертых» форм. К недостаткам клинической диагностики относят также определенной степени субъективизм клинического обследования и различный уровень профессиональной квалификации клинициста.

Этиологический диагноз устанавливается на основании результатов лабораторных исследований и определяет выбор лекарственных препаратов с учетом доказанной этиологической роли конкретных микроорганизмов.

Как известно, эффективность лабораторного исследования в значительной степени определяется качеством получения 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 метиленовым синим и по Граму.

Обследование женщин целесообразно проводить в период овуляции (при наличии выраженных симптомов воспаления в день обращения), при отсутствии приема системных антибактериальных, противогрибковых, противовирусных, протистоцидных препаратов per os в течение двух месяцев, предшествующего исследованию и per vaginam 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, культуральное исследование) у женщин должно служить отделяемое всех возможных отделов инфицирования — 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 влагалища поступательными движениями от лона к себе.

Отделяемое парауретральных желез собирают ложкой Фолькмана, введенной на глубину 1,5–2 см от наружного отверстия по передней стенке уретры.

Материалом для лабораторного исследования из влагалища 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 1,5–2 см, получают отделяемое крипт цервикального канала.

Из ампулы прямой кишки материал получают ложкой Фолькмана, введенной на глубину 3–4 см, циркулярными движениями, выполняя циркулярные движения по стенкам.

Стандартные методы лабораторной диагностики урогенитальных инфекций наряду

с не подлежащими сомнению достоинствами, имеют ряд объективных ограничений, и во многом эффективность последних определяется профессиональной квалификацией врача клинической лабораторной диагностики.

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 характеристику общего числа микроорганизмов в исследуемом препарате.

Объективные ограничения светооптической микроскопии позволяют идентифицировать только 10 морфотипов: *Lactobacillus spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides spp.*, *Mobiluncus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Leptotrihia spp.*, *Veillonella spp.*, *Candida spp.*, грамположительные кокки, колиформные палочки, при этом многие виды этиологически значимых облигатных и условно-патогенных возбудителей невозможно выявить при световой микроскопии, например, такие как *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* и т.д. Серьезные и не всегда решаемые трудности возникают при определении этиологического значения факультативно-анаэробной группы бактерий.

Кроме того, микроскопия дает приблизительную количественную оценку биоты, что особенно существенно в определении этиологического значения выявленных условно-патогенных микроорганизмов в развитии воспалительного процесса у конкретной пациентки. Существенными недостатками также являются до определенной степени субъективизм и зависимость результата исследования от профессиональной квалификации врача клинической лабораторной диагностики.

Классическая микробиология 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, вызывающая ряд патологических процессов в организме, главным образом, представлена анаэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами, для культивирования которых требуются высококачественные селективные питательные среды, специализированные лаборатории, оснащенные необходимым лабораторным оборудованием для выращивания анаэробов, специальная подготовка медицинского персонала лаборатории и высокий профессионализм исследователей. Неизбежно снижение эффективности метода в связи с объективными и субъективными погрешностями. 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.

Метод ПЦР с детекцией результата по окончании реакции (по конечной точке) без количественного определения инфекционного возбудителя позволяет быстро и эффективно

выявить искомый патогенный или условно-патогенный микроорганизм, минуя стадию культивирования и выделения чистых культур. Однако выявление условно-патогенных микроорганизмов без учета количества конкретного микроорганизма и количественно-качественного состава исследуемого биотопа в целом, не позволяет определить этиологическое значение выявленных условно-патогенных микроорганизмов в развитии инфекционно-воспалительного процесса у конкретного пациента.

Решением проблемы количественной оценки широкого спектра условно-патогенных микроорганизмов, в том числе трудно- и некультивируемых, явилось создание тест-системы «Фемофлор», основанной на ПЦР РВ.

Лабораторный анализ выполняется на специализированных приборах для проведения ПЦР с детекцией результата в режиме реального времени, таких как ДТ96, ДТ322 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Программное обеспечение, установленное на указанном оборудовании, обеспечивает получение данных в графическом и цифровом формате, удобном для трактовки и хранения результатов.

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

Таблица 1.

ПОКАЗАТЕЛИ	Фемофлор 4	Фемофлор 8	Фемофлор 16
Контроль взятия материала	√	√	√
Общая бактериальная масса	√	√	√
НОРМОБИОТА			
Lactobacillus spp.	√	√	√
АЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (факультативные анаэробы)			
Enterobacteriaceae		√	√
Streptococcus spp.		√	√
Staphylococcus spp.			√
АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (строгие анаэробы)			
Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.	√	√	√

ПОКАЗАТЕЛИ	Фемофлор 4	Фемофлор 8	Фемофлор 16
Eubacterium spp.		√	√
Sneathia spp./Leptotrihia spp./ Fusobacterium spp.			√
Megasphaera spp./Veilonella spp./Dialister spp.			√
Lachnobacterium spp./ Clostridium spp.			√
Mobiluncus spp./ Corynebacterium spp.			√
Peptostreptococcus spp.			√
Atopobium vaginae			√
МИКОПЛАЗМЫ			
Mycoplasma hominis/ genitalium		√	√
Ureaplasma (urealyticum + parvum)			√
ГРИБЫ			
Candida spp.	√	√	√

Условия получения, хранения и доставки материала для ПЦР исследования

Материалом для исследования методом ПЦР-РВ служит соскоб эпителиальных клеток (уретра, заднебоковой свод влагалища, цервикальный канал шейки матки).

Клинический материал получают одноразовым стерильным инструментом типа «Сytobrush». Полученный клинический образец помещают в пробирку типа «Эппендорф», содержащую транспортную среду.

При необходимости исследования материала из нескольких биотопов, процедуру повторяют, каждый раз используя новый стерильный зонд и новую пробирку.

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

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

Если время транспортировки биологического материала с момента взятия до момента доставки его 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.

Микроорганизмы, диагностируемые тест-системой «Фемофлор».

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 идентифицировать набором «Фемофлор».

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)

Микроорганизм	Систематика, представители	Морфология, тинкториальные и метаболические свойства	Значение группы микроорганизмов в биоценозе
Семейство Enterobacteriaceae	Класс Gammaproteobacteria Порядок Enterobacteriales	Факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки	Являются компонентами нормальной флоры урогенитального тракта у женщин (Ан кирская А.С. 2001) Могут быть этиологической причиной аэробного вагинита: (Donder G.G. et al 2002).
Streptococcus spp.	Класс Bacilli Порядок Lactobacillales Семейство Streptococcaceae	Грамположительные кокки	
Staphylococcus spp.	Класс Bacilli Порядок Bacillales Семейство Staphylococcaceae	Грамположительные кокки	
Gardnerella vaginalis	Класс Actinobacteria Порядок Bifidobacteriales Семейство Bifidobacteriaceae	Анаэробные грамотрицательные палочки, не образующие спор	Gardnerella vaginalis – представитель транзитной 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)

Микроорганизм	Систематика, представители	Морфология, тинкториальные и метаболические свойства	Значение группы микроорганизмов в биоценозе
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)
Eubacterium spp.	Класс Clostridia Порядок Clostridiales Семейство Eubacteriaceae	Облигатные анаэробы, грамположительные палочки, не образующие спор	Виды рода Eubacterium являются одними из основных обитателей кишечника. Условно-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)

Микроорганизм	Систематика, представители	Морфология, тинкториальные и метаболические свойства	Значение группы микроорганизмов в биоценозе
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 кокобациллы	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 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)

Микроорганизм	Систематика, представители	Морфология, тинкториальные и метаболические свойства	Значение группы микроорганизмов в биоценозе
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)
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)
Leptotrihia spp.	Класс Fusobacteria Порядок Fusobacteriales Семейство Leptotrichiaceae	Анаэробные грамотрицательные извитые формы	Leptotrichia spp ассоциирована с развитием бактериального вагиноза. (Fredricks 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)

Микроорганизм	Систематика, представители	Морфология, тинкториальные и метаболические свойства	Значение группы микроорганизмов в биоценозе
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 оценки показателей тест-системы «Фемофлор».

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

Количественную оценку урогенитальной биоты можно проводить как в абсолютных, так и относительных показателях. Абсолютные и относительные показатели рассчитываются программным обеспечением приборов для ПЦР-РВ (ДТ96, ДТ322) на основании номера «порогового» цикла, на котором прибор начинает регистрировать положительную реакцию: чем большее количество микроорганизмов присутствует в биопробе, тем раньше наступит «пороговый» цикл. Количество ДНК искомого микроорганизма в образце принято выражать в геном-эквивалентах (ГЭ), которое пропорционально количеству микроорганизма.

Абсолютный показатель, зависит от техники взятия биоматериала и способа выделения ДНК. Разная техника взятия образца может приводить к тому, что в пробирку будет попадать разное количество биоматериала, что влияет на количественные показатели. Разные способы выделения ДНК удаляют ингибиторы ПЦР-реакции из биопробы с разной степенью эффективности, что также может влиять на абсолютные количественные показатели.

Относительные количественные показатели биоты, когда программное обеспечение прибора рассчитывает количество микроорганизмов из соответствующей группы по отношению к общей бактериальной массе. Относительные показатели являются более точными и объективными, так как на них в значительно меньшей степени влияют погрешности, допускаемые как врачами клиницистами при получении биоматериала из урогенитального тракта, так и врачами клинической лабораторной диагностики при выполнении анализа.

Относительное количество урогенитальной биоты может быть представлено в двух форматах: разница десятичных логарифмов количества соответствующей группы микроорганизмов и общей бактериальной массы (ОБМ) и в процентах по отношению к ОБМ.

- **Контроль взятия материала (КВМ).**

Необходимым условием корректного количественного анализа биоты урогенитального тракта является четкое соблюдение техники получения соскоба эпителиоцитов. Показателем адекватности получения биоматериала является достаточное количество геномной ДНК человека в пробе, источником которой являются эпителиальные клетки, попадающие в пробу при правильной технике взятия биоматериала. Показатель КВМ оценивается в абсолютных значениях, его минимальный пороговый уровень составляет 10^4 . Если КВМ меньше, чем 10^4 , результат ПЦР-РВ количества биоты считается недостоверным. В этом случае рекомендуется повторное получение биоматериала, поскольку в случае низкого уровня КВМ вычисленные соотношения различных групп микроорганизмов могут быть ошибочными.

- **Общая бактериальная масса (ОБМ).**

ОБМ – показатель, по которому можно судить об общем количестве бактерий, при-

существующих в исследуемой биопробе. Показатель оценивается в абсолютных значениях. Для вагинальных соскобов у здоровых женщин репродуктивного возраста эта величина составляет $10^6 - 10^8$, для уретры и цервикального канала – на порядок меньше – $10^5 - 10^7$.

Снижение ОБМ ниже указанных пороговых значений, соответственно, свидетельствует о недостаточном заселении исследуемого биотопа бактериями, возможно вследствие антибиотикотерапии, гипоэстрогении различного генеза и др.

Оценка нормобиоты.

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

ЛБ оцениваются как в абсолютных, так и относительных показателях. В норме ЛБ являются главной составляющей ОБМ, поэтому абсолютный показатель уровня лактобацилл практически не отличается от абсолютного показателя общей бактериальной массы и соответствует $10^6 - 10^8$ для вагинальных соскобов, для уретры и цервикального канала – на порядок меньше – $10^5 - 10^7$.

Относительный показатель ЛБ рассчитывается путем вычисления разницы десятичных логарифмов (Lg) или порядков между абсолютными значениями *Lactobacillus* (ЛБ) и ОБМ. Например, абсолютный показатель ОБМ составляет 10^7 – это значит, что Lg этого показателя будет равен 7-ми.

В норме разница логарифмов (порядков) между ЛБ и ОБМ находится в интервале от 0 до -0,3, что в процентном выражении составляет от 100% - 50% от ОБМ.

Снижение относительного показателя ЛБ служит одним из критериев дисбаланса урогенитальной биоты.

Умеренное снижение относительного показателя ЛБ соответствует интервалу значений от -0,3 до -1,0 (50% -10% от ОБМ)

Значительное снижение относительного показателя ЛБ соответствует значениям ниже, чем -1,0 (меньше 10% от ОБМ).

• Оценка аэробной (факультативно анаэробной) и анаэробной условно-патогенной биоты.

Количество аэробных и анаэробных условнопатогенных бактерий также оценивается в абсолютных и относительных показателях.

Абсолютные количественные показатели приблизительно соответствуют показателям при бактериологических исследованиях.

Относительный показатель уровня определяемого условно-патогенного микроорганизма (УПМ) рассчитывается при помощи программного обеспечения прибора для ПЦР-РВ путем вычисления разницы десятичных логарифмов (Lg) или порядков между абсолютными значениями конкретного микроорганизма/группы микроорганизмов и ОБМ (или в процентах от ОБМ).

В норме разница логарифмов (порядков) между УПМ и ОБМ – меньше -3, что в процентном выражении составляет меньше, чем 0,1% от ОБМ.

Незначительно повышенный уровень соответствует интервалу от -3 до -2, что в

процентном выражении составляет 0,1%-1,0% от ОБМ.

Умеренно повышенный уровень соответствует интервалу от -2 до -1, что в процентном выражении составляет 1%-10% от ОБМ.

Значительно повышенный уровень УПМ соответствует значениям разницы с ОБМ большим, чем -1, что в процентном выражении составляет больше, чем 10% от ОБМ.

- **Оценка микоуреаплазм и грибов рода *Candida*.**

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

Полученные предварительные результаты исследований позволяют предполагать, что пороговым диагностическим уровнем для *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* и *Mycoplasma hominis* является значение абсолютного показателя 10^4 .

Для дрожжеподобных грибов рода *Candida spp* абсолютное значение 10^3 производители тест-системы «Фемофлор» определили как порог чувствительности теста на *Candida spp*.

Таблица 3.

Критерии количественной оценки биоты (набор реагентов «Фемофлор» ООО «НПО ДНК-технология»).

ПОКАЗАТЕЛИ	Абсолютный показатель* ГЭ/образец	Относительный показатель	Оценка показателя
Контроль взятия материала	$>10^4$		достаточно для анализа
	$<10^4$	нет	не достаточно для анализа, требуется повторное взятие биоматериала
Общая бактериальная масса (ОБМ)	10^6-10^8		в пределах нормы
	$<10^6$	нет	сниженный уровень
<i>Mycoplasma hominis</i>	$<10^4$		в пределах нормы
	$>10^4$	нет	уровень повышен
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	$<10^4$		в пределах нормы
	$>10^4$	нет	уровень повышен

ПОКАЗАТЕЛИ	Абсолютный показатель* ГЭ/образец	Относительный показатель	Оценка показателя
------------	-----------------------------------	--------------------------	-------------------

Candida spp.	$<10^3$	нет	в пределах нормы
	$>10^3$		уровень повышен

НОРМОБИОТА	*Абсолютный показатель	Относительный показатель	Оценка показателя
------------	------------------------	--------------------------	-------------------

Lactobacillus spp. (ЛБ)	$>10^{6-8}$	от 0 до -0,3 (100%-50%)	в пределах нормы
		от -0,3 до -1 (50%-10%)	уровень снижен умеренно
	$<10^{5-6}$	< -1 (10%)	уровень снижен значительно

УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (УПМ)	Абсолютный* показатель	Относительный показатель	Оценка показателя
---	------------------------	--------------------------	-------------------

Enterobacteriaceae	$>10^{4-5}$	меньше -3 (0,1%)	в пределах нормы
Streptococcus spp.		от -3 до -2 (0,1%-1%)	уровень повышен незначительно
Staphylococcus spp.			
Gardnerella vaginalis/Prevotella			
bivia/Porphyromonas spp.			

УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (УПМ)	Абсолютный* показатель	Относительный показатель	Оценка показателя
Eubacterium spp.	> 10 ⁴⁻⁵	от -2 до -1 (1%-10%)	уровень повышен умеренно
Sneathia spp./Leptotrihia			
spp./Fusobacterium spp			
Megasphaera spp./Veilonella			
spp./Dialister spp.			
Lachnobacterium spp./			
Clostridium spp.			
Mobiluncus			
spp./Corynebacterium spp.			
Peptostreptococcus spp.			
Atopobium vaginae		больше -1 (10%)	уровень повышен значительно

* Величина абсолютного показателя зависит от техники получения биоматериала и способа выделения ДНК. Приведенные в таблице абсолютные показатели соответствуют биоматериалу, полученному из влагалища.

Классификация состояния биоты

I. Нормоценоз:

1. **Общая бактериальная масса** - абсолютный показатель -10⁶-10⁸ для влагалища, 10⁵-10⁷ - для уретры и цервикального канала.

2. **Нормобиота (*Lactobacillus spp*)** - абсолютный показатель 10⁶-10⁸ для влагалища, 10⁵-10⁷ - для уретры и цервикального канала; относительный показатель - от 0 до -0,3 (100%-50%)

3. **Аэробные и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы.** Абсолютный показатель <10⁴, относительный показатель - меньше -3 (0,1%), отдельные представители УПМ могут иметь относительный показатель от -3 до -2 (0,1%-1%) - слабо увеличенный уровень.

4. **Mycoplasma hominis и Ureaplasma (urealiticum+parvum)** отсутствуют

или их абсолютный показатель $< 10^4$.

5. **Грибы рода *Candida*** – отсутствуют или их абсолютный показатель $< 10^3$.

II. Дисбаланс I (умеренный).

1. **Общая бактериальная масса** – абсолютный показатель 10^6 – 10^8 для влагалища, 10^5 – 10^7 – для уретры и цервикального канала.

2. **Нормобиота (*Lactobacillus spp*)** – абсолютный показатель 10^6 – 10^8 во влагалище, 10^5 – 10^7 – для уретры и цервикального канала; относительный показатель – от –0,3 до –1 (50%–10%).

3. **Аэробные и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы:** абсолютный показатель $> 10^4$, относительные показатели различных УПМ варьируют от –3 до –1 (0,1%–10%).

4. ***Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma (urealiticum + parvum)*** – отсутствуют или абсолютный показатель $> 10^4$.

5. **Грибы рода *Candida spp***. – отсутствуют или абсолютный показатель $> 10^3$.

III. Дисбаланс II (выраженный).

1. **Общая бактериальная масса.** Абсолютный показатель варьирует в широких пределах, он может быть как меньше 10^5 , так и соответствовать норме (10^6 – 10^8) в зависимости от этиологии и патогенеза урогенитального заболевания. Как правило, во влагалище ОБМ на 1 порядок выше, чем в уретре или цервикальном канале.

2. **Нормобиота (*Lactobacillus spp*).** – абсолютный показатель может варьировать от полного отсутствия лактобацилл до значений 10^{5-6} (как правило во влагалище количество лактобацилл на 1 порядок выше, чем в уретре и цервикальном канале); относительный показатель – меньше –1 (0–10%).

3. **Аэробные и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы** – в большинстве случаев абсолютный показатель больше $> 10^5$, относительные показатели различных УПМ могут варьировать от –3 до 0 (0,01%–100%), однако относительные показатели хотя бы части УПМ находятся в пределах от –1 до 0 (10%–100%).

4. ***Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma (urealiticum + parvum)*** могут отсутствовать или абсолютный показатель $> 10^4$.

5. **Грибы рода *Candida spp***. отсутствуют или абсолютный показатель $> 10^3$.

Классификация дисбалансов в зависимости от этиологической структуры:

Анаэробный – дисбаланс, вызванный преимущественно 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*.

Аэробный – дисбаланс, вызванный преимущественно аэробными микроорганизмами: *Enterobacteraceae*, *Streptococcus spp* и *Staphylococcus spp*.

Смешанный – дисбаланс, вызванный сочетанием аэробной и анаэробной бактериальной биоты, возможно в сочетании с дрожжевыми грибами рода *Candida*.

V. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-лабораторные подходы к диагностике урогенитальных заболеваний у женщин репродуктивного возраста (18–45 лет), изложенные выше, были использованы при обследовании 145 (100%) женщин, обратившихся в ГУЗ СВАО КВД № 19 г. Москвы. В зависимости от наличия и степени выраженности клинических проявлений все пациентки были разделены на три группы:

- I-ая группа 30 (21%) – «норма»;
- II-ая группа 27 (19%) – «жалобы»;
- III-я группа 88 (61%) – «клиника»;

I-ю группу «норма» составили женщины, не имевшие субъективной и/или объективной клинической симптоматики, средний возраст 33 ± 8 лет.

II-ю группу «жалобы» составили женщины, предъявлявшие жалобы при отсутствии объективной клинической симптоматики, средний возраст 29 ± 7 лет, длительность заболевания 2,7 года.

III-ю группу «клиника» составили женщины, имевшие объективную клиническую картину, при наличии или отсутствии жалоб, средний возраст 31 ± 10 лет, длительность заболевания 2,7 года.

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе «норма» хронические воспалительные заболевания мочевыделительной системы (уретрит, цистит, пиелонефрит) в анамнезе отмечали 19% пациенток, заболевания желудочно-кишечного тракта (гастрит, колит, дуоденит) – 23%, хронические заболевания органов дыхательной системы (тозиллит, ринит, ангина) – 23% женщин (Рис 1).

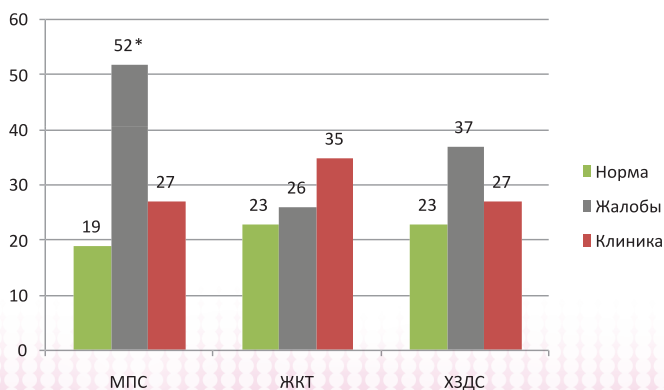


Рис. 1. Частота (%) эндогенных факторов риска в группах «норма», «жалобы», «клиника». МПС – мочеполовая система, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, ХЗДС – хронические заболевания органов дыхательной системы.

В группе «жалобы» хронические воспалительные заболевания мочевыделительной системы в анамнезе (уретрит, цистит, пиелонефрит) отметили 52% пациенток, что было достоверно чаще, чем в группе «норма», заболевания желудочно-кишечного тракта (гастрит, колит, дуоденит) – 26% женщин, хронические заболевания органов дыхательной системы (тозиллит, ринит, ангина) – 37% пациенток (Рис 1).

В группе «клиника» на перенесенные в анамнезе воспалительные заболевания мочевыделительной системы (уретрит, цистит, пиелонефрит) указывали 27% женщин, заболевания желудочно-кишечного тракта (гастрит, колит, дуоденит) – 35%, на хронические заболевания органов дыхательной системы (тозиллит, ринит, ангина) – 27% женщин (Рис.1).

Жалобы со стороны урогенитального тракта (выделения, неприятный запах из влагалища, зуд и/или жжение наружных половых органов, нарушение мочеиспускания) предъявляли пациентки из групп «клиника» и «жалобы».

В группе «жалобы» пациентки жаловались преимущественно на незначительные и умеренные выделения из влагалища – 41%, выраженные выделения из влагалища беспокоили 7% пациенток. Жалобы на зуд и/или жжение предъявляли 33% пациенток, на неприятный запах из влагалища – 30%, нарушение мочеиспускания – 15%, дискомфорт в ректальной области – 11%.

В группе «клиника» наиболее часто пациентки предъявляли жалобы на выделения из влагалища, преимущественно незначительные и умеренные – 57% женщин, выраженные – 14% пациенток. Практически с одинаковой частотой регистрировались зуд и/или жжение (33%) и запах из влагалища (27%), значительно реже (11%) – нарушение мочеиспускания и дискомфорт в ректальной области (6%).

Достоверных различий между группами выявлено не было.

Таким образом, самыми частыми в группе «клиника» (57%) и группе «жалобы» (41%) были жалобы на незначительные и умеренные выделения из влагалища. В большинстве случаев женщины считали данные выделения вариантом своей физиологической нормы, а их выявление стало результатом активного опроса.

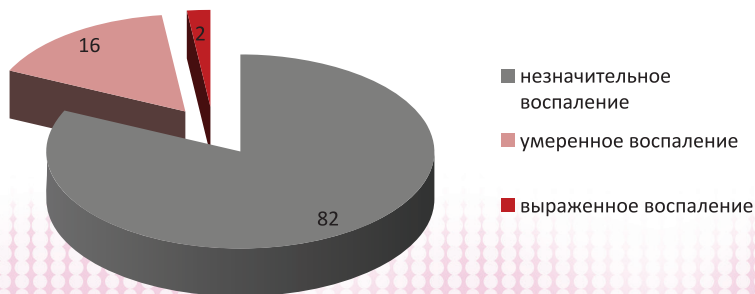


Рис. 2. Распределение пациенток (%) в группе «клиника» в зависимости от степени выраженности клинической симптоматики.

Жалобы на зуд и/или жжение, неприятный запах из влагалища, нарушения мочеиспускания регистрировались в обеих группах реже, но в группе «клиника» – несколько более часто, чем в группе «жалобы».

Объективное клиническое обследование установило, что в группе «клиника» наиболее часто инфекционно-воспалительный процесс локализовался в области эндоцервикального канала шейки матки (70%) и влагалище (60%), значительно реже – в уретре (8%) и ампуле прямой кишки (2%). Заслуживает внимания тот факт, что в группе «клиника» нередко (в 40% случаев) в воспалительный процесс было вовлечено 2 и более очага. В этой группе патологический процесс был представлен преимущественно незначительными симптомами воспаления (82%), умеренное воспаление было у 16% пациенток, а выраженное – только у 2% пациенток. (Рис. 2).

ЛАБОРАТОРНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Норма

По данным литературы у части здоровых фертильных женщин старше 40 лет происходит снижение колонизации урогенитального тракта лактобациллами по сравнению с более молодыми фертильными женщинами. В связи с этим женщины из группы «норма» в зависимости от возраста были разделены на две группы: 1-ая – моложе 40 лет и 2-я – старше 40 лет.

Общая микробная обсемененность (ОБМ) в трех исследованных биотопах (U, C, V) в обеих группах была одинаковой и соответствовала нормальным значениям ОБМ: уретре и цервиксе – на порядок (10 раз) ниже, чем во влагалище.

В то же время средний уровень лактобацилл у женщин моложе и старше 40 лет существенно различался. Если у всех женщин моложе 40 лет лактобациллы были главной составляющей биоты во всех урогенитальных биотопах (относительный показатель был не ниже -0,3 или 50%), то более, чем у половины женщин старше 40 лет уровень лактобацилл был в той или иной мере снижен: от умеренно сниженного (от -0,3 до -1,0 или 50%-10%) до значительно сниженного (относительный показатель меньше, чем -1,0 или 10%).

У женщин с нормальным количеством лактобацилл как моложе, так и старше 40 лет количество УПМ по всем биотопам соответствовало нормоценозу.

У части женщин старше 40 лет со сниженным количеством лактобацилл, было выявлено увеличение количества широкого спектра анаэробных УПМ. Таким образом, у части женщин в возрасте 40-45 лет при отсутствии атрофических изменений в урогенитальном тракте, о чем свидетельствуют данные клинического осмотра и нормальный уровень ОБМ, происходит замещение лактобацилл в урогенитальном биоценозе на широкий спектр анаэробных бактерий.

Наибольшее значение в формировании новых физиологических вариантов урогенитального биоценоза женщин в начальный период перехода к менопаузе, имели четыре микроорганизма/группы микроорганизмов: *Atopobium vaginae*, *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.*, *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp. u Eubacterium spp.*

Учитывая полученные данные о физиологических возрастных изменениях состава биоты у части женщин репродуктивного возраста после 40 лет, дальнейшие исследования проводили у женщин 18-40 лет.

В группе «норма» у фертильных женщин 18-40 лет кроме количественного исследования урогенитальной биоты тест-системой «Фемофлор» было проведено также ПЦР-исследование ряда условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. На рис 3 представлено частотное распределение исследованных патогенов, включая некоторые микроорганизмы, входящие в тест-систему «Фемофлор»: такие как **Ureaplasma (urealyticum+parvum)** в количествах $>10^4$, *Mycoplasma hominis* в количествах $>10^4$, *Candida spp* в количестве $>10^3$.

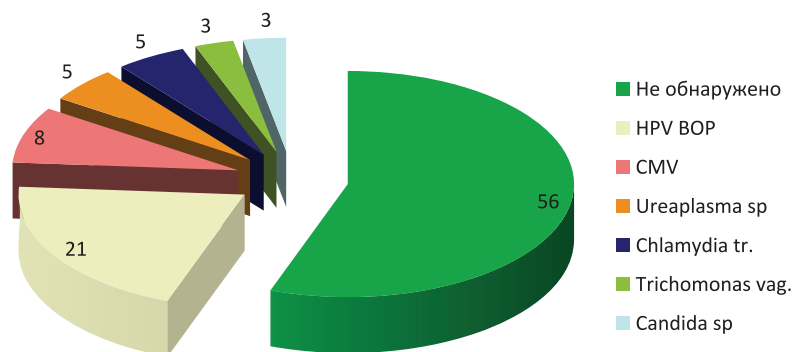


Рис 3. Частотное (%) распределение микроорганизмов у фертильных женщин 18-40 лет с отсутствием объективных и субъективных симптомов (группа «норма»).

В 56% случаев ни один из исследованных микроорганизмов обнаружен не был. В 29% случаев были обнаружены вирусы, из которых HPV BOP составили 21%, а CMV – 8%. Среди возбудителей невирусной природы *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* в высоких титрах ($>10^4$), была выявлена в 5%, – *Chlamydia trachomatis* – в 5%, *Trichomonas vaginalis* – в 3%, *Candida spp* – в 3%.

В подавляющем большинстве случаев (36%) инфекционные возбудители были выявлены в виде вирусной моноинфекции (рис 4), главным образом HPV BOP. Вирусы папиллом высокого онкогенного риска определялись в урогенитальных биотопах (U,C,V) приблизительно с равной частотой, однако несколько более часто в одном из биотопов, чем в нескольких. Грибы рода *Candida* в группе «норма» были выявлены только во влагалище.

Жалобы

Общая микробная обсемененность (ОБМ) в трех исследованных биотопах урогенитального тракта (U, C, V) у женщин с наличием субъективных симптомов соответствовала нормальным значениям ОБМ: уретре и цервиксе – на порядок (10 раз) ниже, чем во влагалище.

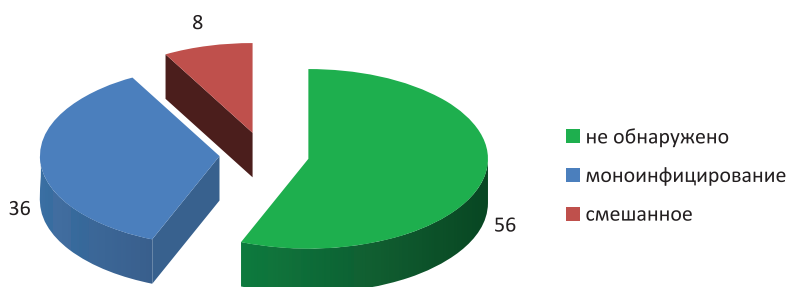


Рис 4. Частотное (%) распределение типа инфицирования у фертильных женщин 18–40 лет с отсутствием объективных и субъективных симптомов (группа «норма»).

В подавляющем большинстве случаев у женщин с отсутствием объективных клинических симптомов определялся нормальный уровень лактобацилл (относительный показатель колебался от $-0,3$ до 0 или 50%–100%). По количественно-качественному составу аэробных и анаэробных условно-патогенных бактерий группа «жалобы» не отличалась от группы «норма». Лишь у 1 женщины из этой группы было выявлено выраженное снижение количества лактобацилл сопровождавшееся выраженным увеличением уровня анаэробных бактерий, что соответствует бактериальному вагинозу.

ПЦР-исследование широкого спектра условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, проведенное в группе женщин с наличием субъективных клинических симптомов (рис 5) показало, что в при отсутствии объективных клинических симптомов воспаления достоверно чаще, чем в группе «норма» (32% против 5%, $p < 0,01$) были обнаружены *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* в высоких титрах ($> 10^4$) и *Candida sp.* (22% против 3%, $p < 0,05$).

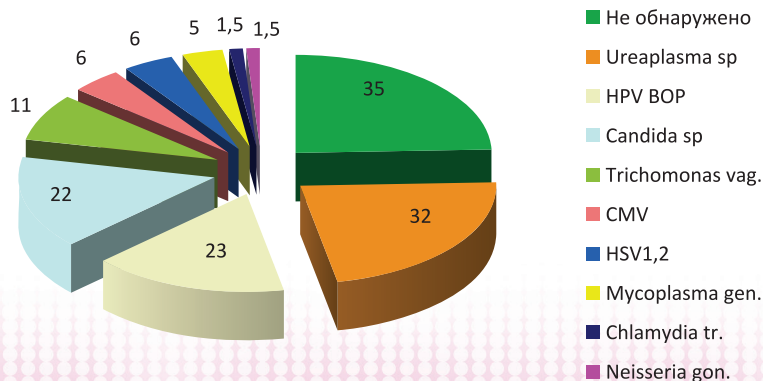


Рис 5. Частотное (%) распределение микроорганизмов у женщин репродуктивного возраста 18–40 лет с отсутствием объективных и наличием субъективных симптомов (группа «жалобы»).

Помимо этого, в 11% была выявлена *Trichomonas vaginalis*, в 5% - *Mycoplasma genitalium*, в 1,5% - *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae*.

Из вирусных возбудителей наиболее часто обнаруживались HPV ВОР (23%). Следует отметить, однако, что выявление этих вирусов в группе «жалобы» не было достоверно более частым, чем в группе «норма». Вирусы HSV1,2 типа и CMV были выявлены в 6% случаев.

Инфицирование одним возбудителем в группе «жалобы» (рис 6) наблюдалось приблизительно в той же пропорции, что и в группе «норма», однако при некотором перераспределении спектра обнаруженных микроорганизмов, выразившемся в уменьшении пропорции вирусов и увеличении пропорции возбудителей невирусной природы. В этой группе была также замечена тенденция к увеличению пропорции ассоциаций инфекционных возбудителей по отношению к инфицированию одним возбудителем.

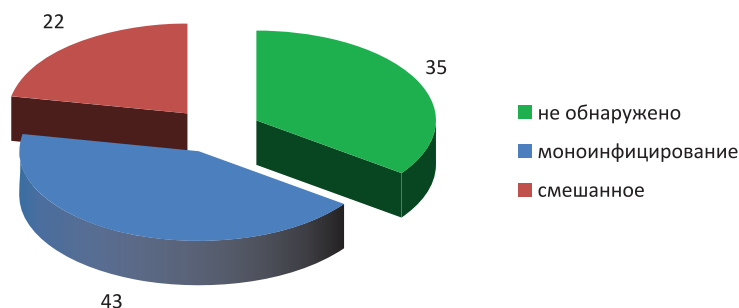


Рис 6. Частотное (%) распределение типа инфицирования у фертильных женщин 18-40 лет с отсутствием объективных и наличием субъективных симптомов (группа «жалобы»).

Наиболее часто выявляемые в группе «жалобы» возбудители, такие как *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* и грибы рода *Candida* можно было обнаружить в любом из биотопов — уретре, цервикальном канале или влагалище как в одном, двух, так и одновременно в трех биотопах.

Таким образом, наиболее вероятной причиной появления разнообразных жалоб при отсутствии объективных клинических признаков воспаления в урогенитальном тракте, являются, по нашим наблюдениям, *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* и грибы рода *Candida*. В более редких случаях имеют значение также и большой спектр других возбудителей, в том числе патогенных, а также бактериальный вагиноз, протекающий без клинических симптомов.

Клиника

Общая микробная обсемененность (ОБМ) в трех исследованных биотопах урогенитального тракта (U, C, V) у женщин, имевших объективные клинические симптомы воспаления, независимо от наличия или отсутствия жалоб, не отличалась по этому показателю от групп «норма» и «жалобы». Бактериальная обсеме-

ненность влагалища была приблизительно в 10 раз выше, чем в уретре или цервикальном канале, что свидетельствует о физиологическом характере более высокого уровня микробной обсемененности влагалища по сравнению с другими биотопами. Отсутствие увеличения общей микробной массы в группе «клиника» может быть связано также с тем, что лишь небольшая часть женщин, обратившихся в медицинское учреждение, имела выраженные признаки воспалительного процесса в урогенитальном тракте.

Количественное исследование нормо- и условно-патогенной биоты показало, что при наличии объективных клинических симптомов воспаления качественный и количественный состав урогенитальной биоты был сходным при наличии жалоб и при их отсутствии, что свидетельствует о ведущей роли объективной симптоматики, а отсутствие жалоб при наличии объективных симптомов, вероятно отражает длительно существующие изменения, которые женщины воспринимают как свое «нормальное» состояние.

Почти в 30% случаев объективная симптоматика сочеталась со снижением уровня лактобацилл. Из них — в 18% наблюдалось значительное снижение (относительный показатель был меньше -1 или 10%), а в 9% было определено умеренное снижение (относительный показатель находился в интервале -0,3 до -1,0 или 50%-10%). В подавляющем большинстве случаев выраженное снижение количества лактобацилл наблюдалось одновременно в трех урогенитальных биотопах или сочеталось с умеренным снижением количества лактобацилл в другом/других биотопах. Умеренное снижение количества лактобацилл наблюдалось как в одном, так и в двух и трех биотопах.

Учитывая важнейшую роль лактобацилл в формировании нормального биоценоза у женщин репродуктивного возраста и с целью выяснения возможных этиологических причин развития клинической симптоматики у женщин с разным количеством лактобацилл группа «клиника» была разделена на две подгруппы в зависимости от уровня лактобацилл: с нормальным и сниженным их количеством, независимо от наличия или отсутствия жалоб.

Клиника с нормальным количеством лактобацилл.

По относительному количественному составу аэробных и анаэробных условно-патогенных бактерий подгруппа «клиника с нормальным количеством лактобацилл» не отличалась от групп «норма» и «жалобы».

ПЦР-исследование ряда условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, проведенное в этой подгруппе показало (рис 7), что самыми частыми микроорганизмами, которые могли быть причиной появления объективных симптомов воспаления в этой подгруппе, были *Candida sp* (34%) и *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* в высоких титрах ($>10^4$) — 30%.

Среди вирусов наиболее часто выявлялись HPV ВОР (32%), частота обнаружения которых, тем не менее, достоверно не отличалась от групп «норма» и «жалобы».

Обнаружить грибы рода *Candida* и *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* можно было в любом из урогенитальных биотопов (уретре, цервикальном канале или влагалище) как в одном из них, двух, так и одновременно в трех биотопах.

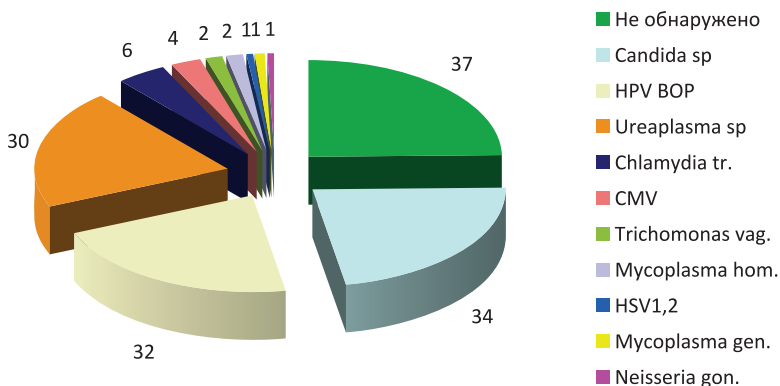


Рис 7. Частотное (%) распределение микроорганизмов у женщин репродуктивного возраста 18–40 лет с объективными клиническими симптомами и нормальным количеством лактобацилл.

Обращает на себя внимание сходство профиля инфекционных возбудителей у женщин с нормальным количеством лактобацилл из групп «жалобы» и «клиника». Однако, в одних случаях микроорганизмы вызывают воспалительные изменения, которые могут быть выявлены врачом, а в других случаях — воспалительные проявления могут отсутствовать, но присутствуют субъективные симптомы. Жалобы, таким образом, даже при отсутствии клинических симптомов являются чрезвычайно важным субъективным сигналом о поражении (чаще локальном) урогенитальных биотопов разнообразными микроорганизмами, включая вирусы, патогенные бактерии, микоплазмы, простейшие или грибы, а разная реакция организма на возбудителя инфекции определяется многими причинами, в том числе и генетическими.

В группе женщин с нормальным количеством лактобацилл и наличием объективных клинических симптомов воспаления отмечено несколько большая частота смешанного инфицирования и меньшая частота моноинфекций по сравнению с группой «жалобы» (рис 8).

Клиника со сниженным количеством лактобацилл.

Подгруппа с объективной клинической симптоматикой и сниженным количеством лактобацилл принципиально отличается от всех остальных групп женщин репродуктивного возраста 18–40 лет сочетанием снижения уровня лактобацилл с увеличением уровня условно-патогенных, главным образом анаэробных и в значительно меньшей степени – аэробных бактерий.

Умеренное снижение количества лактобацилл (от -0,3 до -1,0 или 50%–10%) уже сопровождается достоверным увеличением количества анаэробных и в значительно меньшей степени аэробных бактерий по отношению к образцам с нормальным количеством

лактобацилл от женщин с объективной симптоматикой. В образцах со значительным снижением количества лактобацилл (меньше $-1,0$ или 10%) количество анаэробных условно-патогенных бактерий достоверно выше, чем в образцах с умеренным снижением уровня лактобацилл, и тем более, чем в образцах с нормальным количеством лактобацилл.

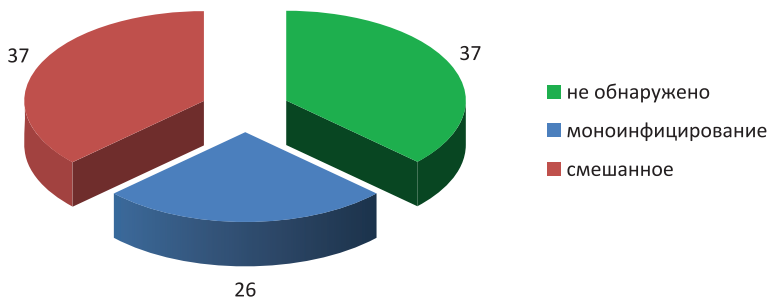


Рис 8. Частотное (%) распределение типа инфицирования у женщин репродуктивного возраста 18–40 лет с объективными клиническими симптомами и нормальным количеством лактобацилл.

При умеренном и значительном снижении количества лактобацилл разные группы УПМ могут иметь разное патогенетическое значение. На рисунке 9 показан «прирост» количества условно-патогенных бактерий в группе с объективными клиническими симптомами на фоне умеренного и выраженного снижения лактобацилл относительно количества тех же УПМ при нормальном уровне лактобацилл. Эти данные свидетельствуют о том, что при умеренном снижении лактобацилл наибольший «прирост» демонстрируют такие группы анаэробных бактерий, как *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp., Lachnobacterium spp./Clostridium spp* и *Eubacterium spp.*, а наименьший – группы аэробных бактерий *Enterobacteriaceae, Streptococcus spp. и Staphylococcus spp.*

При значительном снижении количества лактобацилл наиболее значимое увеличение демонстрируют другие группы микроорганизмов – *Atopobium vaginae* и *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*

В подавляющем большинстве случаев значительное снижение количества лактобацилл наблюдалось одновременно в трех урогенитальных биотопах (U,C,V) или сочеталось с умеренным снижением количества лактобацилл в другом/других биотопах. Умеренное снижение количества лактобацилл наблюдалось как в одном, так и в двух и трех биотопах одновременно.

Таким образом, приблизительно у 30% женщин с объективными клиническими симптомами, были установлены системные (в пределах урогенитального тракта) дисбиотические изменения разной степени выраженности, характеризующиеся снижением количества лактобацилл и увеличением (в разной степени) количества широкого спектра условно-патогенных, преимущественно анаэробных, бактерий.

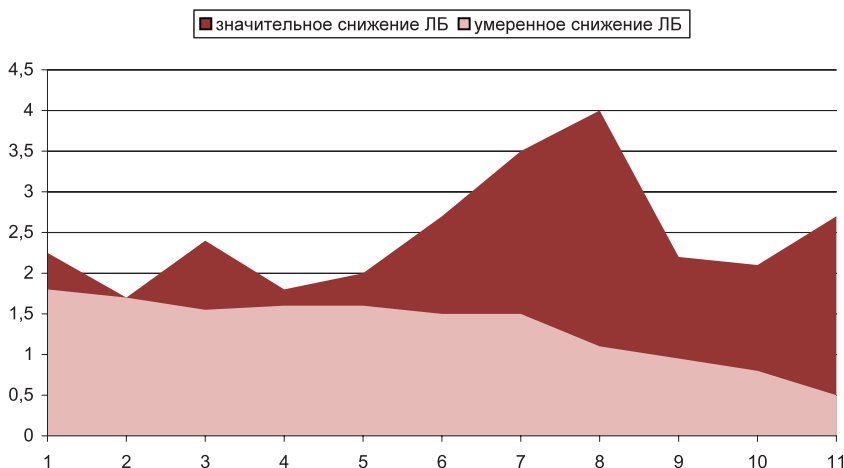


Рис.9. «Прирост» среднего количества (Lg) бактерий относительно их среднего уровня при нормальном количестве лактобацилл: 1.*Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.*, 2.*Lachnobacterium spp./Clostridium spp.*, 3.*Eubacterium spp.*, 4.*Peptostreptococcus spp.*, 5.*Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.*, 6.*Sneathia spp./Leptotrihia spp./Fusobacterium spp.*, 7.*Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*, 8.*Atopobium vaginae*, 9.*Enterobacteriaceae*, 10.*Streptococcus spp.*, 11.*Staphylococcus spp.*

По своим характеристикам, главными из которых являются снижение количества лактобацилл и увеличение количества разнообразной анаэробной биоты, подгруппа «клиника» со сниженным количеством лактобацилл соответствует **бактериальному вагинозу**.

ПЦР-исследование ряда условно-патогенных и патогенных микроорганизмов в группе «клиника со сниженным количеством лактобацилл» (бактериальный вагиноз) показало (рис 10), что самым распространенным микроорганизмом в этой подгруппе оказалась *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* в высоких титрах ($>10^4$), однако частота встречаемости этого возбудителя была достоверно выше только по отношению к группе «норма» (30% против 5%, $p < 0,01$).

Частота встречаемости *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* в высоких титрах ($>10^4$), в двух клинических подгруппах с нормальным и сниженным количеством лактобацилл и группе «жалобы» была сходной. По биотопам уреоплазму в высоких титрах можно было обнаружить как в одном, двух, так и одновременно в трех урогенитальных биотопах.

Самым заметным отличием подгруппы «клиника» со сниженным количеством лактобацилл стало достоверно более частое выявление *Mycoplasma hominis* (15%) по отношению ко всем остальным группам обследованных женщин. По биотопам *Mycoplasma hominis* выявлялась как в одном биотопе (чаще в уретре или влагалище), так и в двух или трех урогенитальных биотопах, в отличие от подгруппы «клиника» с нормальным количеством лактобацилл, в которой *Mycoplasma hominis* выявлялась только в одном из биотопов – уретре или влагалище.

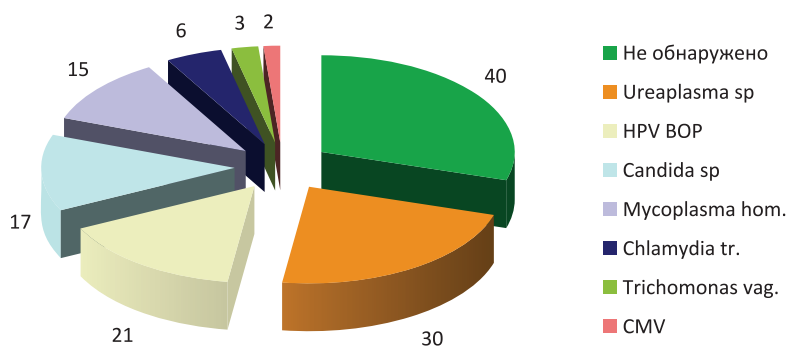


Рис 10. Частотное (%) распределение микроорганизмов у женщин репродуктивного возраста 18–40 лет с объективными клиническими симптомами и сниженным количеством лактобацилл (бактериальный вагиноз).

Частота выявления вирусов HPV BOP группа «клиника» со сниженным количеством лактобацилл (30%) не отличалась от частоты выявления этого возбудителя во всех остальных обследованных группах женщин, включая группу «норма».

Частота обнаружения *Candida sp* в диагностически значимых количествах ($>10^3$) составила 17%, что было достоверно чаще, чем в группе «норма», совпадало по частоте выявления с группой «жалобы» и было достоверно реже, чем в подгруппе «клиника» с нормальным количеством лактобацилл. Более редкое обнаружение грибов рода *Candida* в подгруппе «клиника» со сниженным количеством лактобацилл по сравнению с подгруппой «клиника» и нормальным количеством лактобацилл подтверждает данные о том, что оптимальной для размножения этих грибов является кислая среда. При снижении количества лактобацилл, снижается также кислотность урогенитальной среды, которая становится в этом случае неоптимальной для размножения грибов рода *Candida*. Грибы рода *Candida* в этой подгруппе можно было обнаружить в любом из исследованных биотопов – уретре, цервикальном канале или влагалище как в одном, двух, так и одновременно в трех биотопах.

Подгруппа «клиника» со сниженным количеством лактобацилл характеризовалась также существенно большей, чем в подгруппе «клиника» с нормальным количеством лактобацилл, пропорцией моноинфицирования (рис 11) возбудителями невирусной природы, главным образом *Mycoplasma hominis*.

Проведенное клиничко-лабораторное исследование позволяет сделать вывод о целесообразности комплексного лабораторного обследования на инфекции, вызывающие заболевания урогенитального тракта, включая количественное исследование методом ПЦР–РВ условнопатогенной и нормобиоты, а также качественное ПЦР- исследование инфекций, передаваемых половым путем, и вирусов.

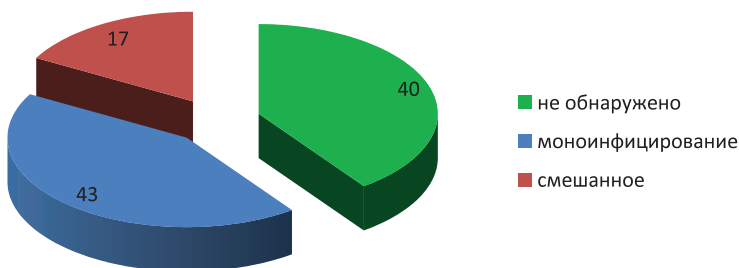


Рис 11. Частотное (%) распределение типа инфицирования у женщин репродуктивного возраста 18-40 лет с объективными клиническими симптомами и сниженным количеством лактобацилл (бактериальный вагиноз).

Лечение

Очевидно, что выбор лекарственной терапии инфекционного заболевания урогенитального тракта зависит, прежде всего, от его этиологической структуры и степени выраженности.

При выявлении смешанного аэробно-анаэробного дисбаланса, необходимо проводить терапию антибактериальными и 5-нитроимидазольными препаратами.

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).

Схема № 1.



Возможные осложнения применения метода и способы их устранения.

Описан метод клинико-лабораторной диагностики урогенитальных инфекций, обусловленных условно-патогенной биотой у женщин репродуктивного возраста. При использовании предложенного метода осложнения выявлены не были.

Эффективность метода

С помощью стандартных методов клинико-лабораторного обследования диагноз удастся установить в 68% случаев, из них в 50% выявляется инфекционно-воспалительный процесс со стороны мочеполовой системы. Однако почти в четверти наблюдений, на основании стандартного клинико-лабораторного обследования диагноз установить не удастся.

Клиническое течение урогенитальных инфекций в последние десятилетия претерпело определенный патоморфоз. Острое течение с ярко выраженной клинической манифестацией стало редким и диагностируется менее, чем у четверти пациентов. Превалируют хронические, то есть малосимптомные и бессимптомные формы заболевания.

У пациенток с хроническим течением урогенитальных инфекций чаще выявляются эндогенные факторы риска со стороны мочевыделительной системы. Очевидно, что своевременное их выявление и устранение является гарантией эффективности лекарственной терапии.

На первичном приеме большинство женщин предъявляют разнообразные жалобы, чаще всего на выделения из влагалища. Однако почти треть женщин расценивают имеющиеся у них выделения, как вариант своей физиологической нормы.

Было установлено, что наиболее часто в воспалительный процесс вовлекается цервикальный канал шейки матки. Особого внимания заслуживает тот факт, что более, чем в 30% случаев был выявлен воспалительный процесс в двух и более отделах мочеполовой системы. По степени выраженности преобладали незначительные симптомы воспаления, в 82% заболевание протекало преимущественно с маловыраженной клинической симптоматикой.

В структуре инфекционных возбудителей преобладали вирусы, значительно реже – бактерии и сочетание вирусов и бактерий. Обязательные патогены обнаруживались не только в группе с наличием объективных клинических симптомов, но также в группе с наличием только субъективной симптоматики и отсутствием объективных клинических симптомов, что свидетельствует о необходимости внимательного отношения к жалобам пациентки, даже и незначительным. Как показало настоящее исследование, у части женщин, субъективно и объективно здоровых, также были обнаружены обязательные инфекционные патогены, что связано, вероятно, с тем, в зависимости от состояния системного и местного иммунитета, попадание даже облигатных патогенов в половые пути не всегда ведет к развитию болезни.

Комплексное ПЦР-исследование, включающее количественное исследование биоты урогенитального тракта методом ПЦР-РВ с использованием тест-системы «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-Технология») и качественное ПЦР-исследование ряда бактериальных и вирусных патогенов позволяет верифицировать диагноз инфекционно-воспалительного процесса: объективно определить его распространен-

ность, выраженность и этиологию. Это особенно важно в случаях с неясной клинической симптоматикой и на ранних стадиях заболевания, когда использование стандартных методов лабораторной диагностики неэффективно.

В 42% при обнаружении инфекционных агентов во влагалище, последние были идентифицированы и в других отделах урогенитального тракта (уретра, цервикальный канал, ампула прямой кишки). Но особого внимания заслуживают те пациентки, у которых при отсутствии облигатных патогенов во влагалище, последние были выявлены в других отделах мочеполовой системы. Данный факт свидетельствует о необходимости исследования отделяемого всех возможных отделов инфицирования, особенно при неясной клинической симптоматике. Аналогичные результаты были получены при изучении количественного состава биоты урогенитального тракта женщин с помощью тест-системы «Фемофлор» («ДНК – Технология»). В подавляющем большинстве случаев при дисбалансе биоты во влагалище, он одновременно диагностировался в уретре и/или эндоцервикальном канале шейки матки. Однако, некоторых пациентов дисбаланс биоты выявлялся в любом другом отделе мочеполовой системы за исключением влагалища, что свидетельствует о необходимости лабораторного обследования всех возможных отделов мочеполовой системы, особенно в случаях с неясной клинической симптоматикой.

Тест-системы «Фемофлор» позволяет определить степень выраженности дисбаланса, который может быть умеренным и выраженным. Выраженный дисбаланс, как правило, носит системный (в пределах мочеполовой системы) характер. Умеренный дисбаланс биоты может быть как системным (в пределах мочеполовой системы), так и локальным (в пределах одного биотопа), иметь как постоянный, так и транзитный характер, быть результатом общетерапевтических заболеваний, системной антибиотикотерапии или быть началом воспалительного процесса, вызванного инфекционным возбудителем.

В подавляющем большинстве случаев выявленного дисбаланса он имел смешанный характер (62%), реже регистрировался только анаэробный, и очень редко – только аэробный (13% и 7% соответственно) дисбаланс.

Заключение

Таким образом, создан эффективный способ клинико-лабораторной диагностики заболеваний урогенитального тракта инфекционного характера, позволяющий проводить комплексную оценку этиологической роли инфекционных агентов в развитии урогенитальной патологии, тем самым позволяя расширить диагностические возможности на ранних стадиях заболеваний, до развития осложнений и в случаях с неясной клинической симптоматикой.

Способ позволяет в короткие сроки объективно:

1. Оценивать качественный и количественный состав биоты урогенитального тракта
2. Проводить этиологическую диагностику инфекционных заболеваний урогенитального тракта
3. Оптимизировать и индивидуализировать лекарственную терапию

4. Проводить мониторинг эффективности терапии
5. Контролировать качество получения биопробы.

Наибольшее практическое значение метод имеет в случаях стертого или бессимптомного течения урогенитальных инфекций.

Кроме того, с помощью данного метода имеется возможность одномоментного выявления полной этиологической структуры заболевания, что обеспечивает назначение направленной этиотропной терапии.

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

Вопросы клинической интерпретации результатов, полученных с использованием данного метода, окончательно не решены и требуют проведения дальнейших клинико-лабораторных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ан кирская А.С., Муравьева В.В. Опыт микробиологической диагностики оппортунистических инфекций влагалища. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2001.-Т.3 -№2.- С.190-194.

Болдырева М.Н., Липова Е.В., Алексеев Л.П., Витвицкая Ю.Г., Гуськова И.А. Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в реальном времени. Журнал акушерства и женских болезней.- 2009- №6- 36-42.

Болдырева М.Н., Липова Е.В., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г., Гуськова И.А. Особенности биоты урогенитального тракта здоровых женщин репродуктивного возраста при исследовании методом ПЦР в режиме реального времени.- Вестник дерматологии и венерологии.- 2010- №1- 80-84.

Кулаков В.И., Прилепская В.Н. Практическая гинекология (Клинические лекции).- 2-е изд.- М.:МЕДпересс — информ, 2002.-720 с.

Липова Е.В. Эффективность местного лечения бактериального вагиноза и урогенитального кандидоза натамицином (пимафуцинов) //Проблемы медицинской микологии. — Vol.5. - №2.-2003.-с.53.

Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Т.2.: Пер. с англ./Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уильямса.-М.: Мир. 1997.-368 с., с ил.

Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника, лечение.-М.: «Триада-Х», 2001.-472.

Федоров С.П. Проблема дисбиоза в гастроэнтерологической практике //РМЖ.- 2006.-Т.№8.-№2.-С.85-89.

Amsel R, Totten P.A., Spiegel C.A. et al. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. American Journal of Medicine 1983; 74:14-22

Cauci S., Driussi S., De Santo D. et al. Prevalence of Bacterial Vaginosis and Vaginal Flora Changes in Peri- and Postmenopausal Women. Journal of Clinical Microbiology 2002; 40(6): 2147-2152

David N. Fredricks, M.D., Tina L. Fiedler, B.S., and Jeanne M. Mrazek, M.D. Molecular Identification of Bacteria Associated with Bacterial Vaginosis The New England journal of medicine, 2005, Volume 353:1899-1911, November 3, ,Number 18.

Donder GG, Vereecken A, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Salembier G, Spitz B. Definition

of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *BJOG*. 2002 Jan;109(1):34-43

Ferris MJ, Maszta A, Aldridge KE, Fortenberry JD, Fidel PL Jr, Martin DH. Association of *Atopobium vaginae*, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis. *BMC Infect Dis* 2004; 4:5-

Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med*. 2005 Nov 3;353(18):1899-911 (1).

Fredericks DN, Marazzo JM. Molecular methodology in determining vaginal flora in health and disease: it time has come. *Curr Infect Dis Rep*, 2005, 7(6): 463-70.

Fredricks DN, Fiedler TL, Thomas KK, Oakley BB, Marrazzo JM Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol*. 2007 Oct;45(10):3270-6.

Funke G, Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA. Clinical microbiology of *Corynebacterium* bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 1997, Jan, p.125-159.

Hessol NA, Priddy FH, Bolan G, Baumrind N, Vittinghoff E, Reingold AL, Padian NS. Management of pelvic inflammatory disease by primary care physicians. A comparison with Centers for Disease Control and Prevention guidelines. *Sex Transm Dis*. 1996 Mar-Apr;23(2):157-63.

Hill GB. The microbiology of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1993, 169:450-454.

Piot P, van Dyck E, Godts P, Vanderheyden J. The vaginal microbial flora in nonspecific vaginitis. *Eur J Clin Microbiol*, 1983, 1:301-306.

Spiegel CA, Amsel R, Eschenbach DA, Schoenknecht F Holmes KK. Anaerobic bacteria in nonspecific vaginitis. *N.Engl J Med*, 1980, 303:601-607.

Spiegel CA, Davick P, Totten PA, Chen KC, Eschenbach DA, Amsel R, Holmes KK Gardnerella vaginalis and anaerobic bacteria in the etiology of bacterial (nonspecific) vaginosis. *Scand J Infect Dis Suppl*, 1983;40:41-6

Kaites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and Ureaplasmas as neonatal pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 2005, Oct, p.757-789.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Примеры выдачи результатов исследования биоценоза урогенитального тракта тест-системой Фемофлор 16 на приборе ПЦР-РВ – ДТ-96

Исследование биоценоза урогенитального тракта у женщины Фемофлор-16

Логотип

Дата 5 Апрель 2010, 11:27:27
 №пробирки ...
 Ф.И.О. пациента ...
 Возраст ...
 Организация ...
 Врач ...
 Примечание ...

Информация о лаборатории

Идентификатор образца: 2458

№	Название исследования	РЕЗУЛЬТАТЫ		
		Абсолютный	Относительный Lg(X/БМ)	<- ->
	Контроль взятия материала	10 4.0		
1	Бакмасса	10 6.7		
НОРМО ФЛОРА				
2	Лактобактерии	10 6.6	-0.1 (72-98%)	--- [x]
АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ				
3	Enterobacterium_spp.	не выделено		
4	Streptococcus_spp.	не выделено		
5	Staphylococcus_spp.	не выделено		
6	Gard/Pre/Prop	10 4.2	-2.5 (0.3-0.4%)	[-x] - -
7	Eubacterium_spp.	10 4.0	-2.7 (0.2-0.2%)	[-x] - -
8	ShcLept/Fuso	не выделено		
9	Mega/Veil/Dial	не выделено		
10	Lachno/Clost	не выделено		
11	Mobil/Coryne	не выделено		
12	Peptostrept	не выделено		
13	Atopobium_vaginae	не выделено		
ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГИВЫ				
14	Candida_spp.*	не выделено		
МИКОПЛАЗМА				
15	Mycoplasma_hom*	не выделено		
16	Ureaplasma_spp.*	10 3.8	3.8 (0.1-0.2%)	
ПАТОГЕНЫ				
17	Mycoplasma_gen**	не выделено		

* Абсолютный анализ Lg(X)

** Качественный анализ



Исследование выполнил:

Дата
Подпись

Нормоценоз.

**Исследование биоценоза урогенитального тракта у женщин
Фенофлор-16**



Дата: 5 Апрель 2010, 11:27:27
 № пробы: ...
 Ф.И.О. пациента: ...
 Возраст: ...
 Организация: ...
 Врач: ...
 Примечание: ...

Информация о лаборатории

Идентификатор образца: 2485

№	Название исследования	РЕЗУЛЬТАТЫ		
		Абсолютный	Относительный Lg(X/БМ)	<- ->
	Контроль взятия материала	10 ^{5.9}		
1	Бакмасса	10 ^{7.9}		
НОРМО ФЛОРА				
2	Лактобактерии	10 ^{4.8}	-3.1 (-0.1%)	-x [-]
АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ				
3	Enterobacterium_spp.	не выявлено		
4	Streptococcus_spp.	не выявлено		
5	Staphylococcus_spp.	не выявлено		
6	Gard/Prep/Prop	10 ^{6.9}	-1.0 (9-12%)	[-x] x-
7	Eubacterium_spp.	10 ^{7.1}	-0.8 (14-18%)	[-x] x-
8	Shel/Lept/Fuso	10 ^{6.6}	-1.3 (4-8%)	[-x] x-
9	Mega/Veil/Dial	10 ^{6.3}	-1.6 (2.3-4.1%)	[x] x-
10	Lechno/Clostr	10 ^{5.1}	-2.8 (0.1-8.2%)	[x] x-
11	Mobi/Coryne	10 ^{3.0}	-4.9 (<0.1%)	[x] x-
12	Peptostrept	10 ^{6.0}	-1.9 (1.0-1.3%)	[-x] x-
13	Atopobium_vaginae	10 ^{7.4}	-0.5 (29-39%)	[-x] x-
ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГИВЫ				
14	Candida_spp.*	10 ^{6.0}	5.0 (0.1-0.1%)	
МИКОПЛАЗМА				
15	Mycoplasma_hom.*	не выявлено		
16	Ureaplasma_spp.*	не выявлено		
ПАТОГЕНЫ				
17	Mycoplasma_gen.**	не выявлено		

* Абсолютный анализ Lg(X)
 ** Качественный анализ



Исследование выполнил:

Дата
Подпись

Выраженный анаэробный дисбиоз.

Список сокращений:

1. ИППП – инфекции, передаваемые половым путем;
2. ПЦР – полимеразная цепная реакция;
3. ПЦР в режиме РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени;
4. УПБ – условно-патогенная биота;
5. ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;
6. КВМ – контроль взятия материала;
7. ОБМ – общая бактериальная масса;
8. Lg – логарифм;
9. ЛБ – лактобактерии;
10. УПМ – условно-патогенные микроорганизмы;
11. ВИЧ – вирус иммунодефицита человека;
12. А/б – антибактериальные препараты;
13. 5-НИМЗ – 5-нитроимидазолные препараты



