



И.С. Галкина,
к.х.н.,
директор
по маркетингу
ООО «ДНК-
Технология»



Т.Н. Бебнева,
к.м.н.,
сотрудник
кафедры
акушерства
и гинекологии РУДН



В.В. Зорина,
к.б.н.,
ведущий
специалист
ООО «ДНК-
Технология»



А.Г. Мухотина,
к.м.н., доцент
кафедры
акушерства
и гинекологии ТГМУ



Диагностика вагинальных инфекций: традиционные методы и современные решения

Для диагностики инфекционных заболеваний нижнего отдела генитального тракта, сопряженных, как правило, с воспалительными процессами органов малого таза различной этиологии, обычно используются традиционные лабораторные методы. Согласно приказу от 01.11.2012 № 572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю “акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)”» обследо-

вание начинается с микроскопического исследования отделяемого женских половых органов на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы. При подозрении на инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), проводятся молекулярно-биологические (полимеразная цепная реакция – ПЦР) и бактериологические исследования на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы и определение чувствительности к антибиотикам. Каждый из этих методов

имеет свои преимущества и объективные ограничения, которые врачу-клиницисту необходимо учитывать при подборе индивидуальных алгоритмов обследования пациенток.

Метод микроскопии известен как самый быстрый и дешевый. Он решает следующие основные задачи:

- выявление возбудителя в клиническом материале;
- ориентировочная идентификация микроорганизмов на основе определения характерных морфологических признаков;
- изучение окрашенных мазков из колоний чистых культур.

Тем не менее использование микроскопии для диагностики инфекционных заболеваний сопряжено с низкой чувствительностью метода, субъективностью результатов и приблизительной количественной оценкой. Так, при диагностике трихомониаза микроскопический метод имеет самую низкую чувствительность, а именно: для мужчин – 10–12%, для женщин – 50–60%. Такие низкие показатели микроскопии обусловлены потерей микроорганизмом характерной подвижности после извлечения во внешнюю среду, тогда как метод ПЦР достоверно определяет возбудителя в 90–96% случаев.

Особенно затруднительно определение возбудителя заболевания в препаратах, содержащих значительное количество клеток эпителия и лейкоцитов. Сравнение чувствительности микроскопических методов исследования и ПЦР применительно к таким микроорганизмам, как *Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamydia trachomatis*, свидетельствует, что в первом случае частота выявляемости патогена методом микроскопии у мужчин составляет 80–95%, у женщин – 30–50%, а во втором – 10–12%. При этом использование метода ПЦР дает возможность определять указанные микроорганизмы с частотой более 95% [6–12].

Традиционно при световой микроскопии выявляют не более 10 морфотипов: *Lactobacillus* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* spp., *Mobiluncus* spp., *Fusobacterium* spp., *Leptotrihia* spp., *Veillonella* spp., *Candida* spp. и др. При этом морфотипы факультативно-анаэробных бактерий морфологически однотипны у многих видов и родов бактерий – колиформные палочки или грамположительные кокки. Например, *Atopobium vaginae* не имеет специфических микроскопических признаков, как *Gardnerella vaginalis* и *Mobiluncus* spp., и выглядит под микроскопом как обычная коринебактерия, довольно часто встречающаяся у здоровых женщин. При этом данный микроорганизм яв-



ЛАБОРАТОРНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ

ляется одним из основных факторов развития рецидивирующих дисбиотических нарушений микробиоценоза урогенитального тракта, бактериального вагиноза и его осложнений.

Кроме того, при микроскопии мазков можно выявить микроорганизмы, присутствующие в биоматериале в количестве, обычно превышающем 10^5 КОЕ/мл, тогда как многие факультативно-анаэробные и аэробные бактерии могут проявлять патогенный эффект при сравнительно небольшом их количестве (до 10^4 КОЕ/мл), которое не выявляется при микроскопии, что снижает диагностическую ценность микроскопического исследования вагинального отделяемого.

В связи с этим возникает проблема установления этиологии воспалительного процесса/дисбиоза и определения тактики ведения пациента и, как следствие, наблюдается увеличение числа рецидивов.

«Золотой стандарт» лабораторных исследований, которым считается культуральный метод (бактериологический посев), позволяет обнаруживать все живые культивируемые микроорганизмы и определять антибиотикоустойчивость выявленных микроорганизмов, то есть по сути является наиболее клинически ориентированным, предоставляя врачу рекомендации по выбору препаратов. Тем не менее у культурального метода существуют объективные ограничения:

- отсутствие возможности культивирования большинства анаэробных микроорганизмов, являющихся наиболее частой причиной урогенитальных заболеваний у женщин;
- длительные сроки культивирования – от пяти дней и выше;
- жесткие условия хранения и транспортировки биоматериала;

- повышенные требования к организации лаборатории и диагностическим средам.

При четком соблюдении требований к качеству взятия, хранения и транспортировки биологического материала чувствительность культурального метода, например, при диагностике гонореи у мужчин составляет 95–98%, тогда как у женщин – не более 80–85%, в случае выявления трихомонады – 70–85%, хламидии – 60–80%.

Таким образом, традиционные методы лабораторного исследования – микроскопия и микробиология не всегда позволяют осуществить объективную диагностику воспалительных заболеваний нижнего отдела генитального тракта, что обуславливает клиническую потребность в использовании новых диагностических методов, в первую очередь молекулярно-генетических, в частности метода ПЦР.

ПЦР-диагностика – это один из наиболее достоверных методов выявления инфекций в организме человека. Метод позволяет определить наличие возбудителя заболевания, даже если он присутствует в исследуемом материале в незначительном количестве (всего несколько молекул его ДНК или РНК), что делает ПЦР одним из самых высокочувствительных и специфичных методов.

Метод ПЦР особенно эффективен при выявлении труднокультивируемых, некультивируемых, требующих сложной питательной среды и персистирующих форм микроорганизмов, с которыми часто приходится сталкиваться при латентных и хронических инфекциях, по-

скольку этот метод позволяет избежать сложностей, связанных с выращиванием микроорганизмов в лабораторных условиях.

Классическая ПЦР, позволяя идентифицировать в исследуемом материале искомые микробные агенты, клинически значима для обнаружения патогенных микроорганизмов, таких как *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*. Выявление данных микроорганизмов достаточно для принятия решения о назначении адекватной терапии.

В настоящее время заболевания, вызываемые условно патогенной микрофлорой, доминируют среди причин, по которым женщины обращаются к акушеру-гинекологу. Особенно стоит отметить, что данные процессы могут протекать без привычных клинических проявлений и ярко выраженных симптомов. Существенный вклад в бессимптомное течение заболевания вносят распространенные среди пациентов самодиагностика и самолечение, способствующие развитию такой клинической картины, в которой преобладают хронические и рецидивирующие формы.

Для диагностики заболеваний, вызванных условно патогенной микрофлорой, выявления факта наличия или отсутствия микробов недостаточно, поскольку данные микроорганизмы могут присутствовать как у здоровых женщин, так и при патологии. Клинически значимым является установление количественных соотношений компонентов нормальной и условно патогенной микрофлоры, что возможно

Таблица

Характеристика диагностических исследований Фемофлор®

	Фемофлор® Скрин	Фемофлор®-8	Фемофлор®-16
Описание исследования	13 показателей + КВМ. Выявление патогенных микроорганизмов (простейшие, вирусы, бактерии), количественная оценка ОБМ, состояния нормофлоры, основных анаэробных микроорганизмов, микоплазм, дрожжеподобных грибов. Комплексная оценка микробиоценоза	9 показателей + КВМ. Количественная оценка ОБМ, состояния нормофлоры, основных факультативно- и облигатно-анаэробных микроорганизмов, вызывающих симптомы воспаления, микоплазм, дрожжеподобных грибов. Расширенная оценка состояния микробиоценоза	17 показателей + КВМ. Количественная оценка ОБМ, состояния нормофлоры, широкого перечня этиологически значимых факультативно- и облигатно-анаэробных микроорганизмов, микоплазм, дрожжеподобных грибов. Детальная оценка состояния микробиоценоза
Основные показания к назначению	Первичное обращение с симптомами воспаления генитального тракта. Профилактический осмотр, в том числе пациенток без жалоб. Подозрение на наличие ИППП. Мониторинг эффективности проведенной терапии, восстановления нормофлоры	Симптомы вульвовагинального кандидоза, баквагиноза, неспецифического вагинита. Мониторинг эффективности проведенной терапии, восстановления нормофлоры	Повторное обращение с симптомами воспаления, неудачное лечение, рецидивы заболевания, хронизация. Подготовка к гинекологическим операциям, беременности, ЭКО, введению ВМС, гистероскопии. Мониторинг эффективности терапии, восстановления нормофлоры

при использовании метода ПЦР в реальном времени (PCR real-time) – исследований Фемофлор®. Исследования Фемофлор® включают количественное определение контроля взятия материала (КВМ), общей бактериальной массы (ОБМ), компонентов нормальной флоры (лактобактерии) и условно патогенных микроорганизмов (до 23 видов этиологически значимых аэробных и анаэробных микроорганизмов), дрожжеподобных грибов, микоплазм. Данная методика позволяет дифференцировать состояние микробиоценоза, выделяя нормоценоз (абсолютный, относительный), умеренный/выраженный дисбиоз (аэробный, анаэробный, смешанный), и определять наиболее эффективные в каждом отдельном случае терапевтические или коррекционные мероприятия [6].

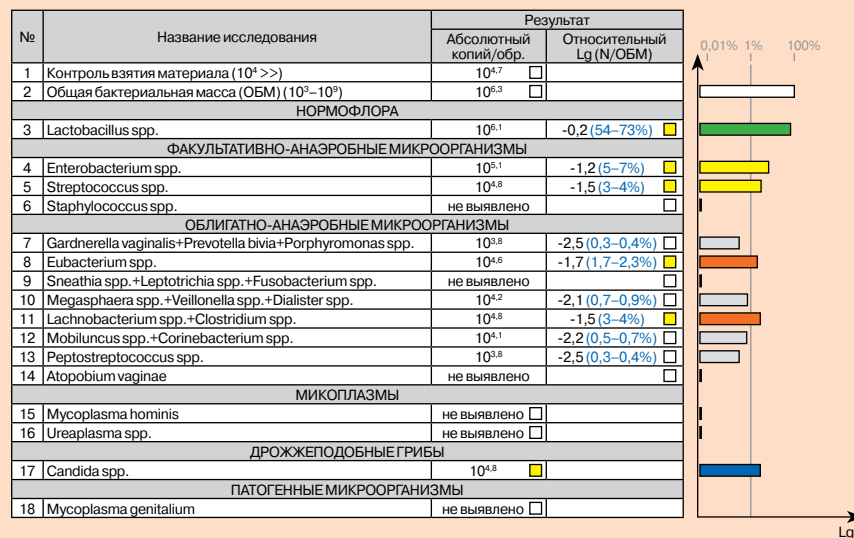
Для решения различных клинических задач было разработано несколько вариантов исследования Фемофлор®, в состав каждого из которых входят те микроорганизмы, которые имеют значение для диагностики данного состояния (табл.).

Предлагаемая форма выдачи результатов с использованием цветowych маркеров и комментариев позволяет врачу быстро и грамотно оценивать результат исследования (рис. 1, 2).

Для получения корректных результатов принципиальное значение имеет качество взятия биоматериала для исследования, который должен содержать достаточное количество эпителиальных клеток человека (КВМ более 10⁴), так как основная масса микроорганизмов, участвующих в создании микробиоценоза, локализована на поверхности эпителия, составляя так называемую биопленку. Именно микробная пленка вместе с поверхностными слоями эпителия, а не содержимое просвета является адекватным для исследования материалом.

Наиболее остро вопрос адекватной диагностики стоит при предгравидарной подготовке и ведении беременности, поскольку своевременно не диагностированные инфекции, ассоциированные с условно патогенной микрофлорой, могут стать причиной нарушения репродуктивной функции женщины, спонтанных абортов, преждевременных родов, внутриутробного инфицирования и низкой массы тела плода, постнатальных осложнений, а также осложнений в случае хирургических вмешательств на органах малого таза. В послеродовом периоде нарушения в балансе микрофлоры влагалища могут стать причиной серьезных инфекционных осложнений у родильниц: метроэндоцервита, перитонита, сепсиса.

Рис. 1
Оценка состояния микробиоценоза влагалища: умеренный смешанный дисбиоз (результат исследования Фемофлор® - 16 пациентки Т. репродуктивного возраста)



При этом интерпретация результатов количественного анализа состояния микробиоценоза урогенитального тракта должна обязательно проводиться с учетом клинической картины. Это связано с тем, что ранее принятая система назначения терапии, в том числе назначение антибиотиков на основании выявления определенных количеств отдельных представителей условно патогенной флоры

Рис. 2
Оценка состояния микробиоценоза влагалища: выраженный дисбиоз, обнаружение Chlamydia trachomatis (результат исследования Фемофлор® Скрин пациентки Н. репродуктивного возраста)

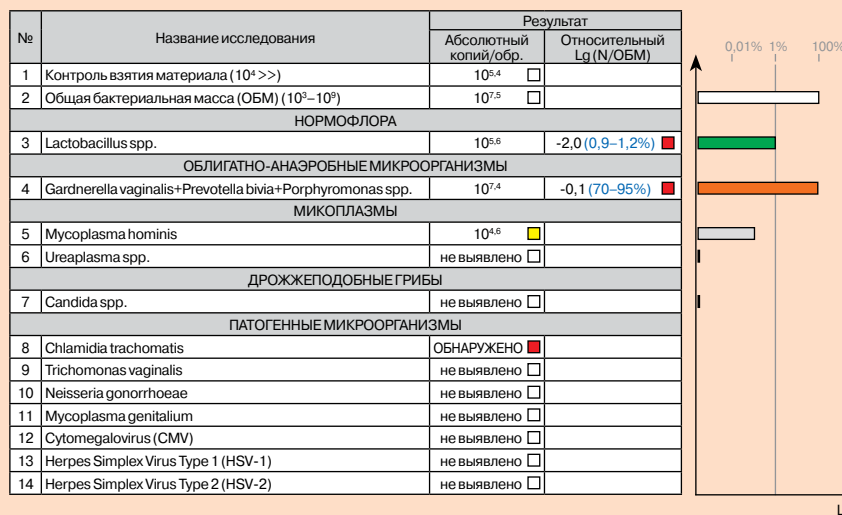
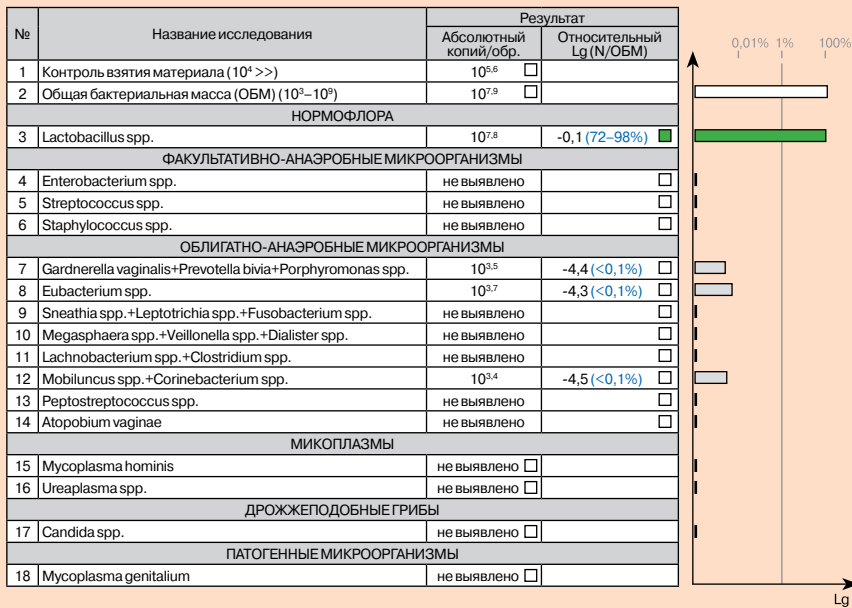


Рис. 3

Оценка состояния микробиоценоза влагалища: абсолютный нормоценоз (результат исследования Фемофлор®-16 пациентки С. репродуктивного возраста)



урогенитального тракта (в первую очередь *Ureaplasma* и *Mycoplasma*), привела к стремительному росту антибиотикорезистентности, увеличению числа случаев рецидивирующего бактериального вагиноза и дисбиоза.

Так, на Междисциплинарном российском консенсусе по генитальным микоплазмам в 2006 г. был сформирован документ, принятый на совместном совещании дерматовенерологов, акушеров-гинекологов, урологов, клинических микробиологов, организаторов здравоохранения Российской Федерации, в котором указано: «*Ureaplasma* spp. и *Mycoplasma hominis* присутствуют на слизистых оболочках и в выделениях уrogenитального тракта у 40–80% практически здоровых людей репродуктивного возраста в количестве менее 10⁴ КОЕ/мл. Лечение следует назначать при наличии клинических проявлений воспалительного процесса и в случае, если *U. urealyticum* и *M. hominis* выявляются в количестве более 10⁴ КОЕ/мл».

На данный момент однозначных доказательств клинической значимости результатов количественного определения отдельных микроорганизмов (*Ureaplasma* spp. и *M. hominis*) не существует. В связи с этим в Клинических рекомендациях по ведению больных с инфекциями, передаваемыми половым путем, и уrogenитальными инфекциями Российского общества дерматовенерологов и косметоло-

гов (2012) указано: «При выявлении *M. hominis* и/или *Ureaplasma* spp. в количестве более 10⁴ КОЕ/мл (или ГЭ/г) и при отсутствии клинических и/или лабораторных признаков воспалительного процесса мочеполовой системы лечение не проводится. Показанием к проведению лечения при отсутствии клинических признаков воспалительного процесса является выявление *Ureaplasma* spp. и/или *M. hominis* у доноров спермы, лиц с диагнозом “бесплодие” и женщин с невынашиванием беременности и перинатальными потерями в анамнезе. Половые партнеры лиц, инфицированных *Ureaplasma* spp. и/или *M. hominis*, подлежат лечению при наличии у них клинической симптоматики и лабораторных признаков воспалительного процесса мочеполовых органов (при исключении иной этиологии данного воспалительного процесса)» [5].

Исходя из современных рекомендаций в алгоритм интерпретации результатов Фемофлор® введен дифференциальный подход к оценке нормоценоза у женщин репродуктивного возраста. Он предусматривает определение состояний:

- абсолютный нормоценоз – количество бактерий рода *Lactobacillus* составляет не менее 80% от общей бактериальной массы, микроорганизмы из группы уrogenитальных микоплазм не превышают значения 10⁴ КОЕ/мл (рис. 3);
- относительный нормоценоз – на фоне доминирования лактобактерий (не менее 80% от ОБМ) количество уrogenитальных микоплазм более 10⁴ КОЕ/мл [1, 4].

Такой подход играет принципиальную роль при анализе результатов, полученных у беременных, поскольку у некоторых женщин в начале беременности максимальное количество условно патогенных генитальных микоплазм (*M. hominis* и *Ureaplasma* spp.) может достигать 10⁶ КОЕ/мл без проявления клинических симптомов дисбиоза [2, 3].

Одной из ключевых особенностей технологии Фемофлор® является возможность идентификации и количественный анализ условно патогенных анаэробов, недоступных для обнаружения культуральным методом в рутинных лабораторных условиях (рис. 4). Тем не менее именно эта группа микроорганизмов играет важную роль в развитии гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде (например, после операции кесарева сечения, вульв- и гистерэктомии). В 25% случаев возбудителей осложнений определяют как «неустановленную микрофлору», что существенно затрудняет назначение этиотропной терапии. Следует отметить, что

ФЕМОФЛОР®: ОБЪЕКТИВНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ

- + количественное и качественное определение в реальном времени микробного состава мочеполового тракта у женщин (лактобактерии, клинически значимые аэробные и анаэробные микроорганизмы, возбудители ИППП) для выбора тактики ведения пациенток, назначения обоснованной терапии, минимизации риска рецидивов воспалительных заболеваний (ФЕМОФЛОР®-СКРИН, ФЕМОФЛОР®-8, ФЕМОФЛОР®-16)



ФЕМОФЛОР® — победитель национальной медицинской премии «ПРИЗВАНИЕ» в 2014 г.

ОНКОПРОГНОЗ

- + диагностика РМЖ и профилактика РШМ (определение полиморфизмов в генах BRCA1, BRCA2, выявление, типирование и количественное определение ВПЧ)

ВЫБОР МЕТОДА КОНТРАЦЕПЦИИ И ПОДБОР ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

- + снижение риска возникновения тромбозов при подборе КОК, назначении ЗГТ (выявление тромбогенных мутаций в генах F5 (Лейденская мутация) и F2 (протромбин))

РЕШЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПРОБЛЕМ

- + генетический скрининг беременных, выявление риска осложнений беременности и патологии плода (определение полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, кровотечений, нарушениями фоллатного цикла)
- + оценка иммунного фактора бесплодия, привычного невынашивания беременности (типирование генов HLA II класса супружеских пар)

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ПЦР (REAL-TIME) В ПРАКТИКЕ АКУШЕРА-ГИНЕКОЛОГА

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЫПОЛНЯЮТСЯ В КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ БОЛЕЕ ЧЕМ В 250 ГОРОДАХ РОССИИ



Компания ДНК-Технология

Служба клиентской поддержки: **8 800 200-75-15**

(звонок по России бесплатный)

т/ф: +7 (495) 980-45-55

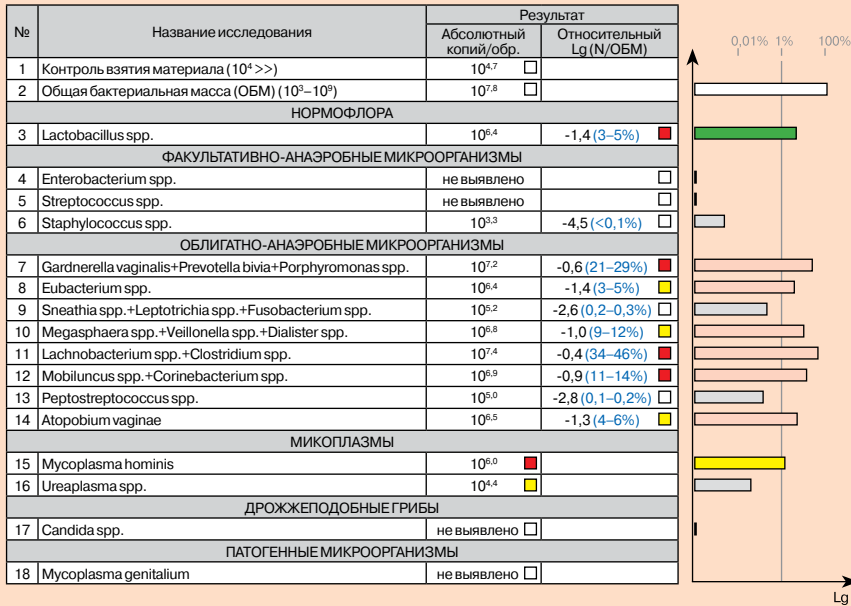
г. Москва, Варшавское шоссе, д. 125Ж, корп. 6, эт. 5

www.dna-technology.ru

mail@dna-technology.ru



Рис. 4
Оценка состояния микробиоценоза влагалища: выраженный анаэробный дисбиоз (результат исследования Фемофлор®-16 пациентки В. репродуктивного возраста)



проведение данного анализа при подготовке к плановым гинекологическим операциям является важным шагом на пути профилактики послеоперационных осложнений.

Проведение анализа состояния микробиоценоза влагалища является важным этапом при реализации стратегии повышения качества жизни женщин в период постменопаузы. Это связано с тем, что возрастные изменения эстрогенового статуса обуславливают морфологическую перестройку многослойного плоского эпителия и сопровождаются изменениями кровотока влагалищной стенки. Синтез гликогена клетками эпителия влагалища находится под контролем эстрогенов, отсутствие гликогена, являющегося основным субстратом питания лактобактерий, приводит к резкому снижению количества нормофлоры. По сравнению с группой здоровых женщин репродуктивного возраста в постменопаузу происходит снижение общей бактериальной массы до 10^{5,2}–10^{6,9} ГЭ/мл, уменьшение количества лактобактерий, снижение их доли в микробиоценозе, возрастает влияние анаэробных микроорганизмов (*Gardnerella* и др.). В вагинальном биоценозе происходит замещение лактобактерий представителями облигатно-анаэробной флоры [4].

Перечисленные изменения определяют-ся как атрофический (сенильный) кольпит,

коррекция которого с использованием заместительной гормональной терапии приводит к восстановлению микробиоценоза до уровня репродуктивного возраста.

Важно отметить, что комплексный подход к оценке состояния флоры урогенитального тракта целесообразен при широком спектре состояний, в том числе при анализе восстановления микробиоценоза после проведенной антибактериальной терапии, в случае использования внутриматочной спирали, при стрессовых воздействиях на организм (переохлаждение, смена климата, нарушение режима питания и авитаминоз), в ситуации частой смены половых партнеров. Для решения всех перечисленных задач может быть успешно использована диагностика методом Фемофлор®.

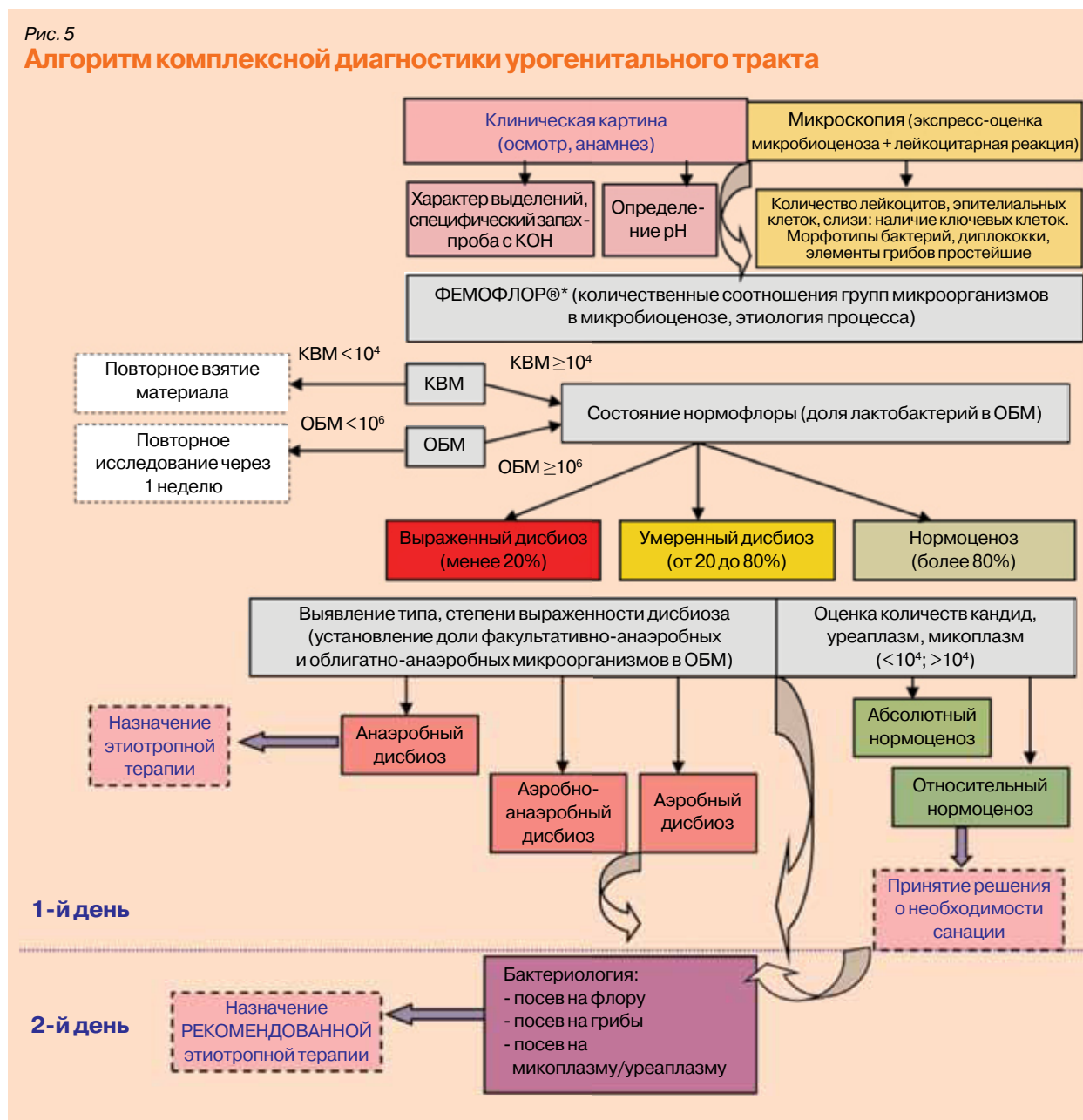
Таким образом, правильный выбор различных методов исследования генитального тракта женщин — микроскопии, микробиологии, ПЦР в реальном времени, основанный на сочетании достоинств и знании объективных ограничений методик (рис. 5), позволит акушеру-гинекологу подбирать рациональный диагностический алгоритм для каждого клинического случая, делая обследование пациенток информативным, а терапию — индивидуальной и эффективной.

Литература

1. Болдырева М.Н., Липова Е.В., Алексеев Л.П. Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в режиме реального времени // Журнал акушерства и женских болезней. 2009. Т. LVIII. Вып. 6. С. 36–42.
2. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: состояние во время беременности // Уральский медицинский журнал. 2010. № 3 (68). С. 103–107.
3. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: изменения и коррекция во время беременности // Уральский медицинский журнал. 2010. № 3 (68). С. 108–111.
4. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? // Акушерство и гинекология. 2011. № 1. С. 57–65.
5. Клинические рекомендации по ведению больных с инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями. Российское общество дерматологов и косметологов // М.: Деловой экспресс, 2012. 112 с.
6. Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест Фемо-

Рис. 5

Алгоритм комплексной диагностики урогенитального тракта



флор®) (медицинская технология) / Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта. М., 2011. 36 с.

7. Bignell C., Unemo M. European guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. 2012.

8. Frieden T., Jaffe H., Cono J. et al. Recommendations for the laboratory-based detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae // MMWR. 2014. Vol. 63. № 2. P. 1–19.

9. Lanjouw E., Ossewaarde J., Stary A. et al. European guideline for the management of Chlamydia trachomatis infections. 2010.

10. Patel S.R., Wiese W., Patel S.C. et al. Systematic review of diagnostic tests for vaginal trichomoniasis // Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 2000. Vol. 8. P. 248–257.

11. Shahmanesh M., Lassau F. European guideline on the management of non-gonococcal urethritis. 2009.

12. Watson E., Templeton A., Russell I. et al. The accuracy and efficacy of screening tests for Chlamydia trachomatis: a systematic review // J. Med. Microbiol. 2002. Vol. 51. P. 1021–1031.

13. Zaki M., Raafat D., Emshaty W. et al. Correlation of Trichomonas vagin alis to bacterial vaginosis: a laboratory-based study // J. Infect. Dev. Ctries. Vol. 4. № 3. P. 156–163. ■