

Заключение. В сравнительном аспекте изучено состояние микрофлоры кишечника и иммунного статуса у детей 8–10 лет. Показано, что дисбиотические изменения выявляют у 94% детей с хроническими заболеваниями ЖКТ и 68% с хроническими заболеваниями других органов. При этом независимо от нозологической формы хронической патологии практически у всех детей наблюдается микробный дисбаланс, однако степень выраженности дисбиотических изменений преобладает при патологии ЖКТ. Развитие у детей различных форм дисбактериоза кишечника сопровождается выраженной степенью нарушений в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета. Увеличение количества УПИ индуцирует выработку как иммуноглобулинов, так и цитотоксических лимфоцитов и НК-клеток. Выявленная направленность иммунных сдвигов и их выраженность указывают на важную патогенетическую роль иммунных механизмов в развитии и прогрессировании у этих детей хронической патологии. Расшифровка иммунных нарушений и дисбиотических сдвигов позволяет подобрать адекватную терапию и тем самым добиться коррекции данных расстройств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бельмер С. В., Хавкин А. И. // Лекции по педиатрии. Гастроэнтерология. – М., 2003. – Т. 3. – С. 101–111.
2. Бондаренко В. М., Мацулевич Т. В. Дисбактериоз кишечника как клинко-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – С. 8–35.

3. Дяковецкая Н. К., Лапина Г. Н., Шулаева М. П., Федоров Р. В. Особенности микробиоценоза кишечника у детей. – Казань, 2005.
4. Конев Ю. В. // Справочник поликлинического врача. – 2007. – № 7. – С. 34–38.
5. Корниенко Е. А. Актуальные вопросы коррекции кишечной микрофлоры у детей. – М., 2006.
6. Малов В. А., Гюлазян Н. М. // Лечащий врач. – 2007. – № 6. – С. 10–14.
7. Миронов А. Ю., Харсеева Г. Г., Клюкина Т. В. Основы клинической микробиологии и иммунологии: Учебное пособие / Под ред. А. Ю. Миронова. – Ростов-н/Д.: ГОУ ВПО РостГМУ, 2011.
8. Отраслевой стандарт "Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника" (ОСТ 91500.11.0004-2003, утвержден Приказом Министерства здравоохранения РФ № 231 от 09.06.2003).
9. Урсова Н. И. // Практика педиатра. – 2006. – №3. – С. 30–37.
10. Хавкин А. И. Микрофлора пищеварительного тракта. – М.: Фонд социальной педиатрии, 2006.
11. Червинец Ю. В., Червинец В. М., Бондаренко В. М. и др. // Журн. микробиол. – 2010. – № 6. – С. 80–83.
12. Червинец Ю. В., Червинец В. М., Миронов А. Ю. и др. // Клин. лаб. диагн. – 2011. – № 2. – С. 44–46.
13. Шендеров Б. А. // Пробиотики и функциональное питание. – М.: Грант, 2001. – Т. 3.
14. Щербаков П. Л. // Фарматека. – 2007. – № 14. – С. 28–34.
15. Rambaud J. C. et al. Gut microflora. – Paris: John Libbey Eurotext, 2006.

Поступила 17.01.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 618.151.16-008.87-078

Л.Д. Андосова, К.Н. Конторщикова, О.В. Качалина, А.В. Белов, Е.С. Гонова, С.Ю. Куделькина

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЦЕНОЗОВ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России, медицинский центр "Тонус", Нижний Новгород

Цель исследования – изучить характеристики биоценозов урогенитального тракта (УГТ) у женщин репродуктивного возраста с применением теста "Фемофлор".

Соскобы с заднебоковой стенки влагалища исследовали методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени с использованием реагентов "Фемофлор" (ООО "НПО ДНК-Технология, Россия). Комплексная оценка урогенитальной биоты позволила выделить три основных типа биоценоза влагалища: I тип – нормоценоз (n = 50 или 11,5%); II тип – умеренный дисбиоз (n = 88, или 20,1%); III тип – выраженный дисбиоз (n = 133, или 30,6%). В структуре нарушений биоценозов УГТ основную роль играют анаэробные микроорганизмы при участии кандид, уреоплазм и микоплазм.

Ключевые слова: биоценоз, нормоценоз, тест "Фемофлор"

L.D. Andosova, K.N. Kontorschikova, O.V. Katchalina, A.V. Belov, Ye.S. Gonova, S.Yu. Kudelkina

THE CHARACTERISTIC OF BIOCECENOSIS OF UROGENITAL TRACT IN WOMEN

The article deals with the study of characteristics of biocenosis of urogenital tract in women of reproductive age with using of "Femoflor" test. The scrapings of posterolateral wall of vagina were analyzed using the technique of real-time polymerase chain reaction using the reagents "Femoflor". The complex evaluation of urogenital biota identified three main types of biocenosis of vagina: type I - normocenosis (n=50 or 11.5%); type II - mild dysbiosis (n=88 or 21%); type III - marked dysbiosis (n=133 or 30.6%). In the structure of alterations of biocenosis of urogenital tract the main role play the anaerobic bacteria with involvement of candida, ureoplasma and mycoplasma.

Key words: biocenosis, normocenosis, "Femoflor" test

Для корреспонденции:

Андосова Лариса Дмитриевна, канд. мед. наук, ассистент каф. клин. лаб. диагностики

Адрес: 630087, Нижний Новгород, пл. Минина, 10/1

Телефон: (831) 438-33-94

E-mail: larisa-andosova@yandex.ru

В настоящее время инфекционно-воспалительные заболевания урогенитального тракта (УГТ) занимают важное место в акушерско-гинекологической, дерматовенерологической и урологической практике. Одной из ведущих причин такого рода нарушений является дисбаланс нормальной и условно-патогенной микрофлоры [4,6]. Дисбиотические

процессы характеризуются нарушением количественных соотношений нормо- и условно-патогенной микрофлоры. Часть этих патологий может протекать бессимптомно или со слабовыраженной симптоматикой, что не вызывает беспокойства у женщины или воспринимается как вариант нормы [1, 7]. Бессимптомное течение такого рода заболеваний может привести к позднему обращению за медицинской помощью и развитию вследствие этого серьезных осложнений, стать причиной нарушения репродуктивной функции. Для своевременной клинико-лабораторной диагностики заболеваний УГТ инфекционного характера существует способ исследования условно-патогенной микрофлоры, который основан на комплексной оценке основных групп микроорганизмов, формирующих урогенитальный биоценоз, методом полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). В основу способа положена комплексная количественная оценка микробиоты молекулярно-генетическим 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 (УПМ) в его развитии при условии контроля качества получения клинического образца для исследования [2, 5].

Для получения корректных результатов большое значение имеют качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортировка и предварительная обработка. Данный метод дает возможность контролировать качество получения биопробы. Этот показатель (контроль взятия материала) служит для контроля правильности взятия материала врачом-клиницистом и позволяет отличать случаи биоценозов со сниженной бактериальной массой от случаев некорректного взятия материала. Решение о необходимости исследовать ту или иную локализацию (уретра, цервикальный канал, влагалище) для оценки состояния урогенитального биоценоза принимает лечащий врач на основании совокупности жалоб пациентки и клинической картины. Для исследования биоценоза урогенитального биотопа у женщин используют соскобы эпителиальных клеток из влагалища (заднебоковые своды), уретры, цервикального канала.

Цель работы – изучить характеристики биоценозов УГТ у женщин репродуктивного возраста путем комплексной оценки баланса нормальной и условно-патогенной микрофлоры с учетом биоты изучаемого эпитопа в целом.

Материалы и методы. Обследованы 434 женщины в возрасте от 18 до 50 лет. Критерии включения в исследование – отсутствие заболеваний, вызванных облигатными патогенными микроорганизмами (сифилис, гонорея, трихомониаз, хламидиоз, ВИЧ). Критерии исключения – беременность или лактация, системное применение гормональных контрацептивных средств, а также антибактериальных препаратов в последние 2 мес, использование местных лекарственных препаратов в течение 3 нед, предшествующих обследованию. Материал для исследования собирали с заднебоковой стенки влагалища в пробирку "Эппендорф" объемом 1,5 мл, содержащую 1 мл стерильного физиологического раствора. Хранение и транспортировку материала проводили согласно действующим нормативным документам. ДНК выделяли с использованием комплекта реагентов "Проба-ГС" (ООО "НПО ДНК-Технология", Россия). Исследование биоценоза влагалища проводили методом ПЦР-РВ с использованием тест-системы "Фемофлор" (ООО "НПО ДНК-Технология", Россия) в детектирующем амплификаторе ДТ-96 согласно инструкции производителя. Качество взятия биоматериала оценивали по результатам анализа геномной ДНК человека в каждом образце (внутренний контроль). Показателем правильного взятия биоматериала является содержание

геномной ДНК человека в образце не ниже 10^4 геном-эквивалентов в 1 мл (в гз/мл). Полученные в результате исследования данные статистически обрабатывали. Оценивали следующие статистические показатели: распределение эмпирических статистических совокупностей и параметров этого распределения, промежуточные итоги в виде абсолютных величин, относительные величины. При помощи специализированного программного обеспечения рассчитывали количество (в геном-эквивалентах на 1 мл (в гз/мл)) общей бактериальной массы (ОБМ), лактобацилл и различных УПМ (факультативно- и облигатно-анаэробные микроорганизмы, микоплазмы и дрожжеподобные грибы).

Определяли долю нормофлоры, факультативно-аэробных микроорганизмов и анаэробных микроорганизмов в процентах среди всех выявленных бактерий. В соответствии с данными клинической апробации теста "Фемофлор" предложена следующая классификация состояния биоты в зависимости от соотношения нормофлоры и условно-патогенной микрофлоры: 1) нормоценоз (лактобактерии составляют более 80% ОБМ, абсолютный показатель УПМ и микоплазм $< 10^4$, для кандид абсолютный показатель $< 10^3$); различают абсолютный и относительный нормоценоз при относительном нормоценозе абсолютный показатель УПМ и микоплазм равен 10^4 или чуть выше, кандид – 10^3 или чуть выше; 2) умеренный дисбиоз (лактобактерии составляют 20–80% ОБМ, абсолютный показатель УПМ и микоплазм составляет $> 10^4$, для кандид абсолютный показатель $> 10^3$); 3) выраженный дисбиоз (лактобактерии составляют менее 20% ОБМ, абсолютный показатель УПМ и микоплазм $> 10^4$, для кандид абсолютный показатель $> 10^3$) [3].

В зависимости от этиологической структуры различают следующие типы дисбиозов: анаэробный – дисбиоз, вызванный преимущественно анаэробными микроорганизмами (*Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus spp.* и др.); анаэробный – дисбиоз, вызванный преимущественно аэробными микроорганизмами (*Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp.*) смешанный (аэробно-анаэробный) – дисбиоз, вызванный сочетанием аэробной и анаэробной биоты.

Результаты и обсуждение. Преобладающим типом дисбиоза оказался выраженный дисбиоз ($n = 133$, или 30,6%). Умеренный дисбиоз выявили у 88 (20,1%) пациенток. Среди женщин с явлениями дисбиоза в ряде случаев отметили нормальный уровень лактобацилл. Среди них абсолютный нормоценоз определили у 50 (11,5%) пациенток, относительный – у 61 (14,1%). Среди различных видов дисбалансов анаэробный оказался наиболее распространенным ($n = 176$, или 40,5%). Смешанный дисбаланс отмечали реже – у 48 (11,1%) женщин, а аэробный – всего у 22 (5,1%). Этиологическую структуру аэробного дисбаланса составляют энтеробактерии, стафилококки и стрептококки. Стрептококки встречались чаще, чем стафилококки, соответственно у 34 (7,8%) и 17 (3,9%) женщин.

Тест "Фемофлор" позволяет выявить облигатно-анаэробные бактерии, диагностика которых другими методами малоэффективна в связи с трудностями, возникающими при их культивировании. Таким патогеном, который к тому же считают высоко специфичным маркером бактериального вагиноза, является *Atopobium vaginae*. Данный микроорганизм выявили у 95 (21,9%) женщин. Среди других представителей анаэробной микрофлоры наиболее значимы гарднереллы и мобилункус. Гарднереллы обнаружили у 172 (39,6%) женщин, мобилункус – у 41 (9,4%).

В структуре нарушений биоценозов УГТ основную роль играют анаэробные микроорганизмы при участии кандид, уреоплазм и микоплазм. При оценке количества уреоплазм, а также дрожжеподобных грибов рода *Candida ssp.* установили преобладание уреоплазм ($n = 93$, или 21,4%) над микоплазмами ($n = 22$, или 5,1%) и кандидами ($n = 47$, или 10,8%). Сочетание уреоплазмоз + кандидоз обнаружили у 16 (3,7%)

пациентов, микоплазмоз + кандидоз – у 1 (0,2%), микоплазмы и уреоплазмы одновременно – у 11 (2,5%).

Выводы. Молекулярно-биологический тест "Фемофлор" на основе ПЦР-РВ является чувствительным инструментом для исследования биотопа влагалища. Использование данного теста позволило установить, что 384 (88,5%) женщины имели те или иные нарушения биоценоза влагалища, что, возможно, является одной из ведущих причин урогенитальных инфекционно-воспалительных заболеваний. На основании полученных данных можно говорить о том, что применение углубленных методов диагностики, инновационных лабораторных технологий, а именно ПЦР-РВ, позволяет в короткие сроки, объективно, точно оценить систему биоценоза влагалища путем учета биоты изучаемого эпитопа в целом. Использование теста "Фемофлор" дает возможность выбрать правильную терапию и контролировать ее проведение, определять критерии излеченности и прогноз заболевания.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.921.8-078:577.21.08

М. Н. Прадед¹, С. Б. Яцышина¹, Т. С. Селезнева¹, С. В. Малинина², Н. В. Бирюлева², Т. Е. Любимова², Н. С. Воробьева¹

ПЦР-ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ *B. PERTUSSIS*, *B. PARAPERTUSSIS* И *B. BRONCHISEPTICA*

¹ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва; ²Филиал ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве в ВАО г. Москвы

Эффективное лечение коклюша напрямую зависит от ранней диагностики. ПЦР является наиболее перспективным диагностическим методом. Разработан набор реагентов для ПЦР-диагностики коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза, проведена оценка аналитических характеристик. Чувствительность составила 1×10^3 геномных эквивалентов (ГЭ) на 1 мл исследуемого материала с применением сорбционного метода экстракции ДНК и 5×10^2 ГЭ/мл – преципитационного метода экстракции ДНК, специфичность в рамках исследованной панели штаммов и изолятов микроорганизмов – 100%. Диагностическая чувствительность анализа превысила чувствительность бактериологического исследования в 20 раз. Использование данного набора реагентов позволяет выявить и дифференцировать ДНК возбудителей коклюша, паракоклюша в течение одного рабочего дня уже в начале катарального периода заболевания и до 18-го дня от появления кашля, что в перспективе дает возможность своевременного применения специфической терапии. Исследован спектр возбудителей ОРЗ, вызвавших острый длительный кашель у детей, направлявшихся на бактериологическое исследование для подтверждения коклюшной инфекции.

Ключевые слова: *B. pertussis*, ПЦР, коклюш, диагностика, ОРВИ

M.N. Praded, S.B. Yatsyshyna, T.S. Selezneva, S.V. Malinina, N.V. Birulyeva, T.Ye. Lubimova, N.S. Vorobyeva
THE KIT OF REAGENTS FOR POLYMERASE CHAIN REACTION DIAGNOSTIC OF INFECTIONS
CAUSED BY *B. PERTUSSIS*, *B. PARAPERTUSSIS* AND *B. BRONCHISEPTICA*

The effective treatment of whooping cough directly depends of early diagnostics. The polymerase chain reaction diagnostic is the most perspective diagnostic technique. The kit of reagents is developed to diagnose whooping cough, parapertussis and bronchisepticosis with polymerase chain reaction. The evaluation of its analytical characteristics was carried out. The sensitivity made 1×10^3 of genome equivalents per 1 ml of sample (the sorption technique of DNA extraction was applied) and 5×10^2 of genome equivalents per 1 ml (the precipitation technique of DNA extraction was used). The specificity of test in the framework of analyzed panel of strains and isolates of microorganisms made 100%. The diagnostic sensitivity of analysis exceeded the sensitivity of bacteriological analysis up to 20 times. The application of this kit of reagents permits to detect and to differentiate DNA of agent of whooping cough, parapertussis during one working day already at the beginning of catarrhal period of disease and up to 18th day from the moment of cough appearance. In perspective, this process creates an opportunity to apply timely the specific therapy. The specter of agents of acute respiratory diseases bring on acute prolonged cough in children who were directed to bacteriological analysis to confirm whooping cough is investigated.

Key words: *B. Pertussis*, polymerase chain reaction diagnostic, hooping cough, acute respiratory viral disease

Для корреспонденции:

Прадед Мария Николаевна, мл. науч. сотр. науч. группы разработки новых методов диагностики ОРВИ
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а
Телефон: (495) 974-96-46
E-mail: praded.mn@gmail.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырева М.Н., Липова Е.В., Алексеев Л.П. и др. // Журн. акуш. и жен. бол. – 2009; № 5. – С. 36–42.
2. Ворошилова Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. и др. // Уральск. мед. журн. – 2010. – № 3 (68). – С. 108–112.
3. Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г. Фемофлор: Пособие для врачей. – М.: ДНК-Технология, 2010. – С. 3–37.
4. Макаров О.В., Алешкин В.А., Савченко Т.Н. Инфекции в акушерстве и гинекологии. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – С. 87–228.
5. Burton J.P., Cadieux P., Reid G. // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – Vol. 69. – P. 97–101.
6. Leitich H., Bodner-Adler B., Brunbauer M. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2003. – Vol. 189. – P. 139–147.
7. Morelli L., Zonenenschain D., Piano M. et al. // J. Clin. Gastroenterol. – 2004. – Vol. 38 (suppl. 6). – P. 107–110.

Поступила 27.02.12

Введение. Коклюш – острая антропонозная инфекционная болезнь с воздушно-капельным путем передачи, характеризующаяся длительным характерным спазматическим кашлем с явлениями интоксикации и поражением дыхательной, сердечно-сосудистой и нервной систем.

Вакцинация против коклюша входит в национальные