

УДК 616.6-008.87-055.2-07

## ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЦЕНОЗОВ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕСТА «ФЕМОФЛОР»

Л.Д. Андосова<sup>1</sup>, К.Н. Конторщикова<sup>1</sup>, С.Ю. Куделькина<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия», <sup>2</sup>Медицинский центр «Тонус», г. Н. Новгород

*Андосова Лариса Дмитриевна – e-mail: larisa-andosova@yandex.ru*

Цель исследования: изучить характеристики биоценозов урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста с применением теста «Фемофлор». Материал и методы: соскобы с заднебоковой стенки влагалища. Исследование биоценоза влагалища проводили методом ПЦР -РВ с использованием реагентов Фемофлор (ООО «НПО ДНК-Технология»). Комплексная оценка урогенитальной биоты в представленных группах позволила выделить три основных типа биоценоза влагалища: 1-й тип – нормоценоз 46 женщин (16,8%); 2-й тип – умеренный дисбиоз – 69 женщин (25,2%); 3-й тип – выраженный дисбиоз – 93 человека (34%). Наиболее многочисленная группа – это женщины с выраженным дисбиозом влагалища. В структуре нарушений биоценозов урогенитального тракта основную роль играют анаэробные микроорганизмы, в том числе с участием кандид, уреоплазм и микоплазм. Тест «Фемофлор» предлагает принципиально новый подход по оценке физиологического равновесия и дисбаланса биоты, что дает возможность выбрать правильную терапию и контролировать ее проведение, определять критерии излеченности и прогноз заболевания.

Ключевые слова: биоценоз, нормоценоз, тест «Фемофлор», микробиота.

The goal of research: to learn biocenose characteristics of urogenital tract among women at childbearing age by using the test «Femoflor». The research materials was scrapes from posterolateral vagina wall. The research was carried out by method of polymerase chain reaction format «Real time». An integrated assessment of urogenital biota allowed distinguishing three types of biocenose of vagina: 1 type – normocenose – 46 women (16,8 percentages); 2 type – temperate dysbiose – 69 women (25, 2 percentages); 3 type – apparent dysbiose – 93 patients (34 percentages). The most numerous group is women with apparent dysbiose of vagina. Anaerobic microorganisms play the main role in the structure of biocenose imbalance, including Candida, Ureaplasma and Mycoplasma. The test «Femoflor» offers a fundamentally new approach to the evaluation of physiologic balance and imbalance of biota and gives the opportunity to choose the correct therapy and to control the conducting of therapy, and to determine the criteria of recovery and prognosis of disease.

Key words: biocenose, normocenose, test «Femoflor», microbiota.

Учение о нормальной микрофлоре организма человека в виде единой экологической системы или микробиоценозе в настоящее время находится в центре внимания врачей различных специальностей [1]. Видовой и количественный состав биоценоза половых путей, биологические свойства отдельных анаэробных и аэробных микроорганизмов, их ассоциации, особенности смешанных популяций и главное – заболевания и состояния, связанные с нарушением биоценоза половых путей, диагностика этих состояний только

начинают изучаться и получают развитие [2, 3, 4]. В настоящее время для оценки состояния микробиоты используют традиционные методы клинической и лабораторной диагностики. Последняя включает в себя микроскопическое исследование, культуральное, полимеразную цепную реакцию (качественную и количественную) [5, 6]. Достижения молекулярной биологии, связанные с разработкой метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, представили новые возможности в изучении микробного

состава различных биотопов человека. Лабораторная диагностика, в настоящее время, предлагает эффективный способ оценки биоценоза урогенитального тракта у женщин методом ПЦР формат Real-time с учетом биоты изучаемого эпитопа в целом. Метод получил название «Фемофлор» [7, 8].

**Цель исследования:** изучить характеристики биоценозов урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста с применением теста «Фемофлор».

### Материал и методы

Критерии включения в группу исследования были следующие: возраст от 18 до 50 лет, отсутствие заболеваний, вызванных облигатными патогенами: сифилис, гонорея, трихомоноз, хламидиоз, ВИЧ. Критерии исключения: беременность или лактация, системное применение гормональных контрацептивных средств, а также антибактериальных препаратов в последние 2 месяца, использование местных лекарственных препаратов в течение трех недель, предшествующих обследованию. Проведенное клиническое исследование показало, что большинство женщин (262 человека, или 95,6%) обратились с разнообразными жалобами со стороны урогенитального тракта. Это были жалобы на умеренные выделения из половых путей или реже чувство жжения и дискомфорта в области наружных половых органов. С целью профилактического осмотра было отмечено 12 женщин, что составляет 4%. В структуре гинекологических заболеваний у обследованных пациенток обращает на себя внимание высокий уровень воспалительных заболеваний нижнего отдела генитального тракта и органов малого таза, что может быть свидетельством как сниженной резистентности макроорганизма в целом, так и свидетельством нарушения местных защитных факторов вагинального микробиоценоза. Материал для исследования собирали с заднебоковой стенки влагалища в пробирку эппендорф, содержащую 1 мл физиологического раствора, хранение и транспортировку материала проводили согласно действующим нормативным документам. ДНК выделяли с использованием комплекта реагентов проба-ГС (ООО «НПО ДНК-Технология»). Исследование биоценоза влагалища проводили методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием реагентов Фемофлор (ООО «НПО ДНК-Технология») в детектирующем амплификаторе ДТ-96 согласно инструкции производителя (ООО «НПО ДНК-Технология»). Количество эпителиальных клеток во взятом материале оценивали по результатам анализа геномной ДНК человека в каждом образце. При помощи специализированного программного обеспечения рассчитывали количество (в геном-эквивалентах/мл (гэ/мл)) общей бактериальной массы (ОБМ), лактобацилл и различных групп условно-патогенных микроорганизмов (факультативно- и облигатно-анаэробных МО, микоплазм и дрожжеподобных грибов). Также оценивали долю нормофлоры, факультативно-анаэробных микроорганизмов и анаэробных микроорганизмов в процентах среди всех выявлен-

ных бактерий. В соответствии с данными клинической апробации теста «Фемофлор» была предложена следующая классификация видов биоценоза: 1. нормоценоз (абсолютный нормоценоз) – вариант биоценоза, при котором доля нормофлоры в его составе была более 90% относительно общей бактериальной массы (ОБМ), количество *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Candida spp.* менее 104 гэ/мл; 2. относительный нормоценоз – вариант биоценоза, при котором доля нормофлоры в его составе была более 90% относительно ОБМ, количество *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Candida spp.* более 104 гэ/мл; 3. умеренный (аэробный или анаэробный) дисбаланс – вариант биоценоза, при котором доля лактобактерий определяется в пределах 10–90% относительно ОБМ и увеличена доля аэробов или анаэробов; 4. выраженный (аэробный, анаэробный или смешанный) дисбаланс – вариант биоценоза, при котором доля аэробов или анаэробов достигает 90% относительно ОБМ, а доля лактобактерий снижается менее 10% относительно ОБМ. Полученные данные подвергнуты статистической обработке. Оценивались следующие статистические показатели: распределение эмпирических статистических совокупностей и параметров этого распределения, промежуточные итоги в виде абсолютных величин, относительные величины.

### Результаты и их обсуждение

Комплексная оценка урогенитальной биоты в представленных группах позволила выделить три основных типа биоценоза влагалища: 1-й тип – нормоценоз 46 женщин (16,8%); 2-й тип – умеренный дисбиоз – 69 женщин (25,2%); 3-й тип – выраженный дисбиоз – 93 человека (34%). Наиболее многочисленная группа – это женщины с выраженным дисбиозом влагалища. Дисбиоз или дисбаланс биоты – это нарушение соотношения конкретных представителей норма и условно-патогенной биоты относительно общего количества микроорганизмов при условии контроля качества получения клинического образца для исследования [9, 10]. Показателем правильного взятия биоматериала является достаточное количество геномной ДНК человека в пробе, оптимальная величина этого показателя должна составлять не менее  $10^5$  в логарифмическом масштабе. Анализ выполненных исследований позволяет утверждать, что были отмечены нарушения техники взятия соскоба с поверхности соответствующего биотопа, часть проб (3,3%) имела показатель контроля взятия материала (КВМ) меньший, чем  $10^4$ . Результат ПЦР-анализа биоты был охарактеризован как недостоверный, что потребовало повторного взятия биоматериала. Оценка нормобиоты урогенитального тракта женщин с помощью теста «Фемофлор», где основным представителем являются лактобактерии, выявила следующие состояния: умеренно сниженный уровень лактобацилл или относительный нормоценоз – это 73 женщины (26,6%); значительно сниженный уровень лактобацилл – 87 человек (31,7%); третью группу представили женщины, у которых абсолютный показатель уровня лактобацилл практически не

отличается от абсолютного показателя общей бактериальной массы, т. е. составляет  $10^6$ – $10^8$  Ig – это 86 пациенток (31,4%). Проведенные исследования показали, что у 160 женщин (58,4%), больше половины обследуемых, выявили угнетение нормальной биоты, что делает возможным заселение влагалища патогенными микроорганизмами или чрезмерное размножение условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). С помощью теста «Фемофлор» была проведена оценка аэробной и анаэробной условно-патогенной микробиоты. Анаэробный дисбиоз представлен самыми большими цифрами – 107 женщин (35%), смешанный – аэробно-анаэробный дисбиоз занимает второе место – 36 человек (13,1%), аэробный дисбиоз или дисбаланс – самая малочисленная группа – 10 человек (3,6%). Этиологическую структуру последнего дисбиоза составляют энтеробактерии, стрептококки и стафилококки, которые реже всего выявляются в отделяемом влагалища. Чаще всего причиной дисбиоза, по нашим данным, являются анаэробы. С помощью нового лабораторного теста «Фемофлор» труднокультивируемые облигатно-анаэробные бактерии легко определяются, а также выявляется группа микроорганизмов, диагностика которых до сих пор не была представлена – это, например, *Atopobium Vaginae* – 53 человека (18,3%) испытуемых выявляют этот микроорганизм, маркер рецидивирующего течения бактериального вагиноза. Анализ этиологической структуры выявленного дисбаланса продемонстрировал превалирование уреоплазм у 64 человек (23,4%) и грибов рода *Candida* – у 49 женщин (17,9%), микоплазмоз – 17 пациенток (6,2%), смешанные формы – уреоплазмоз + кандидоз (21–7,7%), микоплазмоз + кандидоз (3–1,1%), микоплазмоз + уреоплазмоз (9–3,3%) регистрируются значительно реже. В структуре нарушений биоценозов урогенитального тракта основную роль играют анаэробные микроорганизмы, в том числе с участием кандид, уреоплазм и микоплазм.

**Выводы.** Использование ПЦР в реальном времени позволило установить, что 60% женщин имели те или иные нарушения биоценоза влагалища, что безусловно является одной

из ведущих причин урогенитальных инфекционно-воспалительных заболеваний, которые занимают важное место в акушерско-гинекологической практике. На основании полученных данных можно говорить о том, что применение углубленных методов диагностики, инновационных лабораторных технологий, а именно ПЦР в реальном времени позволяет в короткие сроки, объективно, точно оценить систему биоценоза влагалища путем учета биоты изучаемого эпитопа в целом. Тест «Фемофлор» предлагает принципиально новый подход по оценке физиологического равновесия и дисбаланса биоты, что дает возможность в случае необходимости выбрать правильную терапию и контролировать ее проведение, определять критерии излеченности и прогноз заболевания.



#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сидорова И.С., Боровкова Е.И. Микрофлора половых путей у женщин репродуктивного возраста. М.: Практическая медицина, 2007. С. 80.
2. Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г. Фемофлор: пособие для врачей. М. 2010. С. 30.
3. Дмитриев Г.А., Глазко И.И. Диагностика инфекций, передаваемых половым путем. М.: Бино, 2007. С. 33–86.
4. Сидорова И.С., Боровкова Е.И. Микрофлора половых путей у женщин репродуктивного возраста. М.: Практическая медицина, 2007. С. 62.
5. Шипицина Е.В., Мартикайнен З.М., Воробьева Н.Е. и др. Применение теста «Фемофлор» для оценки микробиоценоза влагалища. Журнал акушерства и женских болезней. 2009. № 3. С. 44–50.
6. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. и др. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: состояние во время беременности. Уральский медицинский журнал. 2010. № 3 (68). С. 103–107.
7. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. и др. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: изменения и коррекция во время беременности. Уральский медицинский журнал. 2010. № 3 (68). С. 108–112.
8. Burton J.P., Cadieux P., Reid G. Improved understanding of the bacterial vaginal microbiota of women before and after probiotic instillation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. № 69. P. 97–101.
9. Leitch H., Bodner-Adler B., Brunbauer M., et al. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2003. № 189. P. 139–147.
10. Morelli L., Zonenenschain D., Del Piano M. et al. Utilization of the intestinal tract as a delivery system for urogenital probiotics. *J Clin Gastroenterol.* 2004. № 38 (Suppl 6). P. 107–110.