

**Т.В. Скляр¹, О.В. Крисенко¹,
О.С. Воронкова¹, М.Г. Папіашвілі², А.І. Вінніков¹**

¹Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

²ПРЦ ТОВ «Незалежна лабораторія ІНВІТРО»

e-mail: voronkova_olga@inbox.ru

ВИЗНАЧЕННЯ СКЛАДУ МІКРОФЛОРИ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТУ ЖІНОК ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ ТЕСТ-СИСТЕМИ «ФЕМОФЛОР-17»

*З використанням тест-системи «Фемофлор-17» проаналізовано склад мікрофлори піхви жінок. Встановлено, що у 92,7 % зразків були присутні лактобацили. За кількістю лактобацил стан мікрофлори піхви характеризувався як нормобіоз. Наявність дисбіозу на тлі виявлення мікоплазм, уреоплазм і дріжджів роду *Candida* визначено у 38,2 % жінок. Наявність мікоплазм, уреоплазм і кандид як монозбудників визначено у 71 % випадків і у асоціації двох збудників – у 29 % випадків.*

При встановленні відповідності одержаних за допомогою тест-системи «Фемофлор-17» результатів клініко-бактеріологічним маркерам дисбактеріозу стан мікрофлори піхви охарактеризували як: помірний анаеробний дисбіоз – 6 %, помірний аеробний дисбіоз – 10 %, помірний анаеробно-аеробний дисбіоз – 35 %, виражений анаеробний дисбіоз – 12 %, виражений аеробний дисбіоз – 10 %, виражений анаеробно-аеробний дисбіоз – 27 %. У переважній більшості випадків виявлено асоціації облигатно-анаеробних мікроорганізмів.

К л ю ч о в і с л о в а: мікрофлора репродуктивного тракту, фемофлор-17, умовно-патогенні та патогенні бактерії.

Стан репродуктивного здоров'я жінок є одним із чинників, що мають окрім медичного значення і соціальні наслідки, оскільки впливають на демографічні показники. Порушення складу мікрофлори репродуктивного тракту можуть мати певні негативні наслідки, зокрема невиношування вагітності, передчасні пологи, безпліддя тощо. Поряд із порушеннями складу мікрофлори піхви, які визначаються як дисбіози або неспецифічні запальні процеси, виділяють також і процеси, викликані патогенними мікроорганізмами [2].

Для вивчення складу мікрофлори проводять комплексне бактеріологічне дослідження, яке має доволі високу тривалість, у той час як лікування іноді слід починати негайно, тому особливої актуальності набуває пошук методів для швидкого виявлення та ідентифікації мікроорганізмів. У цьому сенсі перспективними є молекулярно-генетичні методи, які мають високу чутливість та надійність, і дозволяють прискорити лабораторну діагностику.

З огляду на це метою роботи було проаналізувати якісний і кількісний склад мікрофлори УГТ жінок в нормі і при патології з використанням тест-системи «Фемофлор-17».

Матеріали та методи. Дослідження проводилося на базі відділу мікробіології ПРЦ ТОВ «Незалежна лабораторія ІНВІТРО». Склад мікрофлори піхви визначали у зразках виділень, отриманих від 55 жінок віком від 20 до 54 років. Дослідження біологічного матеріалу проводили методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням ампліфікатора ДТ-96/ДТ-322 (ТОВ

«НПО ДНК-Технология», РФ) в режимі *Real-time* із використанням системи «Фемофлор-17» (ТОВ «НПО ДНК-технология», РФ), яка дозволяє отримати повну кількісну характеристику мікрофлори піхви та диференціювати стан фізіологічної рівноваги та дисбактеріозу [6]. Визначали одночасну присутність збудників інфекційних захворювань та умовно-патогенних мікроорганізмів (УПМ) у складі мікрофлори піхви. Визначали наступних збудників інфекцій: *Candida spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*. Виявлення у досліджуваному біологічному матеріалі перерахованих вище мікроорганізмів у кількості більше 4 Іг КУО/мл свідчило про наявність кандидозу, мікоплазмозу або уреаплазмозу. Наявність *M. genitalium* у будь-якій кількості свідчило про мікоплазмоз. Також визначали представників родини *Enterobacteriaceae*, родів *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Eubacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, виду *Atopobium vaginae* і асоціації бактерій: *Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.*; *Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp.*; *Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.*; *Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.*; *Mobiluncus spp. + Corynebacterium spp.* Стан мікрофлори визначали відповідно до критеріїв, наведених у інструкції до використання тест-набору [9] та загальних клінічних критеріїв [11], відповідно до яких зниження кількісного показника представників роду *Lactobacillus* нижче мінімального значення норми (4 Іг КУО/мл) розцінювалося як дисбіоз.

Ідентифікацію ентеробактерій, стрептококів та стафілококів до виду проводили відповідно Наказу №535 “Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений” від 22.04.1985р.” [7].

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням програми OriginLab 7.5 Pro.

Результати та їх обговорення. Із використанням тест-системи «Фемофлор-17» було визначено склад мікрофлори піхви (табл. 1). Аналіз одержаних результатів свідчить про порушення мікрофлори репродуктивного тракту у 92,7 % випадків, що виражалося у переважанні понад норму кількості УПМ при збереженні кількості лактобацил у межах 4 Іг КУО/мл та більше. У інших 4 зразках (7,3 %) лактобацил виявлено не було, що в усіх випадках супроводжувалося повною відсутністю патогенів на тлі значного перевищення показника норми для УПМ та їх асоціацій. В цих випадках визначали еубактерії, пептострептококи та атопобіум, асоціації сneathій, лептотрихій та фузобактерій, мегасфери з вейлонелами та діалістером, лახнобактерій і кластридій, мобілунокуса та коринебактерій, гарднерели з превотелами та порфіромонадами. Кількісні показники для УПМ перевищували значення 5,5 Іг КУО/мл для кожного з представників та їх асоціацій.

Нами було проаналізовано стан мікрофлори піхви за відомими критеріями дисбіозу [9]. Визначено (рис. 1), що за ознакою процентної кількості лактобацил стану норми відповідав 71 % зразків, стану умовного нормоценозу відповідали 25 % зразків, а для 4 % зразків попри перевищення кількісного показника нижньої межі норми (Іг 4 КУО/мл) загальна частка лактобацил у мікробній масі не досягала 20 %, що відповідало стану вираженого дисбіозу піхви. Крім зниженого процентного вмісту лактобацил у одному з цих двох зразків відмічали переважання як факультативно-анаеробних, так і облигатно-анаеробних УПМ. Наступні процентні показники було визначено для асоціації облигатно-анаеробних мікроорганізмів *Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.* –

Таблиця 1

Склад мікрофлори репродуктивного тракту жінок, визначений з використанням тест-системи «Фемофлор-17»

Мікроорганізми	Частота виявлення, %	Кількісний показник (lg)
Нормофлора		
<i>Lactobacillus spp.</i>	92,7	8,18±7,72
Збудники		
<i>Candida spp.</i>	20,0	5,32±4,72
<i>Mycoplasma hominis</i>	3,6	5,33*
<i>M. genitalium</i>	0	—
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	29,0	5,73±4,95
Умовно-патогенні мікроорганізми та їх асоціації		
<i>Enterobacteriaceae</i>	14,5	5,16 ^Δ
<i>Staphylococcus spp.</i>	49,1	5,05±4,65
<i>Streptococcus spp.</i>	34,5	6,11±5,16
<i>Atopobium vaginae</i>	16,4	7,36±6,86
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	16,4	6,74±5,51
<i>Eubacterium spp.</i>	50,9	6,57±5,96
<i>Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.</i>	50,9	6,93±6,18
<i>Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp.</i>	10,9	7,86±6,60
<i>Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.</i>	34,5	6,86±6,16
<i>Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.</i>	23,6	6,53±6,02
<i>Mobiluncus spp. + Corynebacterium spp.</i>	18,2	7,00±6,25

П р и м і т к а: * – дані отримано для 1-2 зразків, ^Δ – помилка не наводиться через значну розбіжність кількісних показників, отриманих у результаті досліджень зразків матеріалу

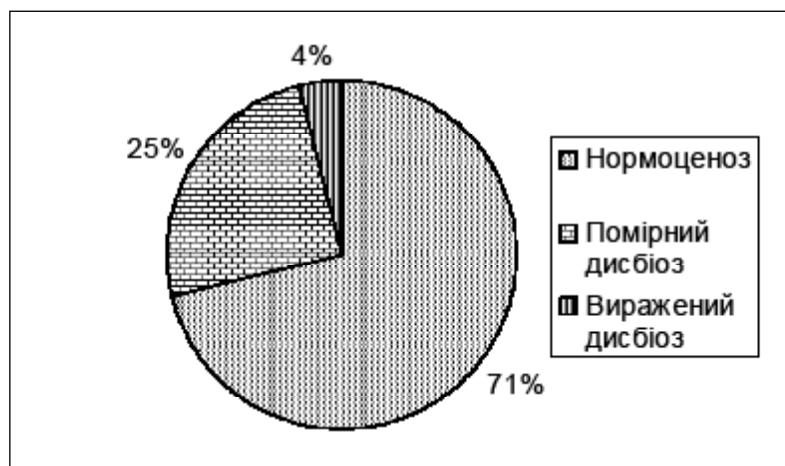


Рис. 1. Розподіл дослідженого матеріалу за процентною кількістю лактобацил

30-41% від загальної мікробної маси, *Megasphaera spp.* + *Veillonella spp.* + *Dialister spp.* – 3-4%; а також для бактерій: *Atopobium vaginae* – 21-28%, *Eubacterium spp.* – 10-14%, *Peptostreptococcus spp.* – 7-9%. Крім вказаних мікроорганізмів також виявлено дріжджі роду *Candida*, але у кількості, що не перевищує показник 4 Іг КУО/мл. Відповідно до критеріїв дисбіозу, наведених вище, у даному випадку визначено виражений анаеробно-аеробний дисбіоз, з відношенням аероби: анаероби – 1: 4000.

У інших випадках зниженої процентної кількості лактобацил також відмічено зростання кількісної долі УПМ з формуванням вираженого анаеробного дисбактеріозу з домінуванням асоціацій облигатно-анаеробних бактерій: *Sneathia spp.* + *Leptotrichia spp.* + *Fusobacterium spp.* – 58-79%, *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* та *Mobiluncus spp.* + *Corynebacterium spp.* – 16-22%, *Megasphaera spp.* + *Veillonella spp.* + *Dialister spp.* – 8-10% при майже повній відсутності факультативних анаеробів. До того ж у цьому випадку було виявлено наявність *M. hominis* та *Ureaplasma spp.*

Для 71 % зразків, що за ознакою кількості лактобацил відповідали стану нормоценозу, та 25 %, що відповідали умовному нормоценозу, було проаналізовано кількісні показники умовно-патогенних факультативно- та облигатно-анаеробних бактерій, а також наявність патогенних мікроорганізмів. Було встановлено, що в усіх випадках мало місце перевищення порогового значення 4 Іг КУО/мл хоча б для однієї з досліджуваних груп мікроорганізмів, що з огляду на інші дані [1, 2, 3, 4] про характеристики дисбіозу, свідчить про невідповідність стану мікрофлори піхви нормі.

Аналіз різних груп мікроорганізмів дозволив виявити (рис. 2), що помірний анаеробний дисбіоз мав місце для 6 % зразків, помірний аеробний дисбіоз – для 10 % зразків, помірний анаеробно-аеробний дисбіоз – для 35 % зразків. Для ряду зразків було відмічено виражений дисбіоз. Так, виражений анаеробний дисбіоз відзначали для 12 % зразків, виражений аеробний дисбіоз – для 10 % зразків, виражений анаеробно-аеробний дисбіоз – для 27 % зразків.

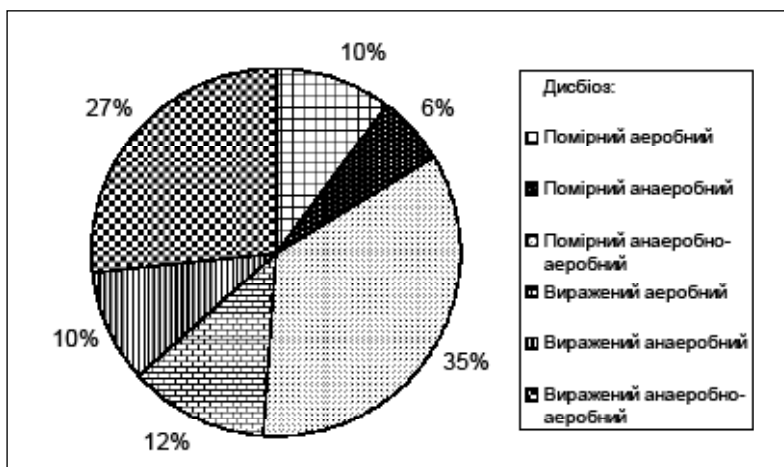


Рис. 2. Тип дисбіозу при перевищенні умовно-патогенними бактеріями граничного значення норми

У наших дослідженнях встановлено, що дисбіоз на тлі інфекційної патології мав місце у 21 випадку (100 %) (рис. 3). Виявлення мікоплазм, уреоплазм та кандид у всіх випадках мало місце при анаеробно-аеробному дисбіозі: для 38 % (8 випадків) при помірному дисбіозі, для 62 % (13 випадків) – при вираженому.



Рис. 3. Частота виявлення дисбіозу на тлі інфекційної патології

У більшості випадків збудники виявлялися як моноінфекція (71 %) і рідше як асоціація двох збудників (29 %). Асоціацію мобілуноксів та коринебактерій було виявлено у 18,2 % зразків, і максимальний кількісний показник складав 10^8 КУО/мл. Факультативно анаеробні мікроорганізми (*Escherichia coli*, *Enterococcus fecalis*, *Staphylococcus epidermidis* тощо) виявляють близько у 23 % випадків [5]. У нашому дослідженні показано, що частота виявлення стафілококів був значно вищим – 49,1 %. 92,6 % виділених штамів стафілококів ідентифіковані як *Staphylococcus epidermidis* та у 7,4 % – *S. saprophyticus*. Родова ідентифікація ентеробактерій дозволила визначити, що *E. coli* була ідентифікована у 50 % (4 випадки), *Enterobacter* – 37,5 % (3 випадки) та *Klebsiella* – 12,5 % (1 випадок). Стрептококи у більшості випадків – 83,3 % (15 випадків) – були ідентифіковані як *Streptococcus agalactiae*.

За даними численних досліджень серед інфекційно-запальних захворювань геніталій все більшого значення набувають ті, етіологічними агентами яких є умовно-патогенні бактерії та гриби, що є складовими нормофлори. Відсутність специфічної клінічної картини запалення та безсимптомний перебіг ускладнюють діагностику цих захворювань, що призводить до хронізації процесу та розвитку ускладнень [8]. В цьому сенсі тест-системи, що ґрунтуються на методах молекулярно-генетичної діагностики, стають ефективним засобом вивчення складу мікрофлори піхви та інтерпритації його стану як нормобіоз чи дисбіоз. Застосування тест-системи «Фемофлор-17» робить можливим швидке виявлення як добре культивованих звичайними методами мікроорганізмів, так і примхливих і важкокультивованих. Таким чином, показано принципові переваги використання методу полімеразної ланцюгової реакції і тест-системи «Фемофлор-17», як інструменту, у комплексному дослідженні складу мікрофлори піхви, що значно

підвищує точність ідентифікації мікроорганізмів та скорочує час проведення лабораторного аналізу.

Висновки:

1. У 92,7 % досліджених зразків біологічного матеріалу були виявлені лактобацили. За показником вмісту лактобацил нормоценозу відповідав 71 % зразків, стану умовного нормоценозу відповідали 25 % зразків, а для 4 % показана відповідність стану вираженого дисбіозу піхви.

2. Стан мікрофлори піхви позначений як: помірний анаеробний дисбіоз – 6 % зразків, помірний аеробний дисбіоз – 10 %, помірний анаеробно-аеробний дисбіоз – 35 %, виражений анаеробний дисбіоз – 12 % зразків, виражений аеробний дисбіоз – 10 %, виражений анаеробно-аеробний дисбіоз – 27 % зразків.

3. Дисбіоз на тлі інфекційної патології визначено у 21 випадку. Виявлення мікоплазм, уреаплазм та кандид у всіх випадках мало місце при анаеробно-аеробному дисбіозі: для 38 % при помірному дисбіозі, для 62 % – при вираженому. Мікоплазми, уреаплазми та кандиди виявлялися як моноінфекція у 71 % випадків і як асоціація двох збудників у 29 % випадків.

4. 92,6 % штамів стафілококів належали до виду *Staphylococcus epidermidis* та 7,4 % – *S. saprophyticus*. З 8 штамів ентеробактерій 50 % належали до виду *E. coli*, 37,5 % – до родів *Enterobacter spp.* та 12,5 % – *Klebsiella spp.* 83,3 % штамів стрептококів були ідентифіковані як *Streptococcus agalactiae*, інші 16,7 % віднесено до *Streptococcus spp.*

**Т.В. Скляр¹, А.В. Крысенко¹, О.С. Воронкова¹, М.Г. Папиашвили²,
А.И. Винников¹**

¹ Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара

² ПРЦ ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО»

e-mail: voronkova_olga@inbox.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-СИСТЕМЫ «ФЕМОФЛОР-17»

Р е з ю м е

С использованием тест-системы «Фемофлор-17» исследован состав микрофлоры влагалища женщин. Установлено, что в 92,7 % образцов присутствовали лактобациллы. По количеству лактобацилл состояние микрофлоры влагалища характеризовалось как нормобиоз. Наличие дисбиоза на фоне выявления микоплазм, уреаплазм и дрожжей рода *Candida* определено для 38,2 % образцов. Микоплазмы, уреаплазмы и кандиды определялись как моноинфекция в 71 % случаев и как ассоциация двух возбудителей в 29 % случаев.

При установлении соответствия полученных с помощью тест-системы «Фемофлор-17» результатов клинико-бактериологическим маркерам дисбактериоза состояние микрофлоры влагалища охарактеризовали как: умеренный анаэробный дисбиоз – 6 % образцов, умеренный аэробный дисбиоз – 10 %, умеренный анаэробно-аэробный дисбиоз – 35 %, выраженный анаэробный дисбиоз – 12 % образцов, выраженный аэробный дисбиоз – 10 %, выраженный анаэробно-аэробный дисбиоз – 27 % образцов. В подавляющем большинстве случаев выявлены ассоциации облигатно-анаэробных микроорганизмов.

К л ю ч е в ы е с л о в а: микрофлора репродуктивного тракта, Фемофлор-17, условно-патогенные и патогенные бактерии.

DEFINITION OF WOMEN REPRODUCTIVE TRACT MICROFLORA COMPOSITION USING TEST-SYSTEM "FEMOFLO-17"

S u m m a r y

The data about composition of the vaginal microflora of women with use of the test system "Femoflor-17" was analyzed. Established that 92.7 % of samples contained lactobacilli. For quantity of lactobacilli vaginal flora characterized as normobiosis. The dysbiosis in the background detection of mycoplasma, ureaplasma and yeast of genus *Candida* identified for 38.2% of the samples. Mycoplasma, ureaplasma and candida as monoinfection detected in 71 % of cases and as an association of two pathogens in 29 % of cases.

In establishing compliance obtained by the test system "Femoflor-17" results to clinical and bacteriological markers of vaginal dysbiosis characterized as moderate anaerobic dysbiosis – 6 % of the samples, moderate aerobic dysbiosis – 10%, moderate anaerobic-aerobic dysbiosis – 35%, pronounced anaerobic dysbiosis – 12 % of the samples, expressed aerobic dysbiosis – 10%, anaerobic-aerobic expressed dysbiosis – 27% of the samples. Showing dominance of obligate anaerobic microorganisms associations among other microorganisms.

Key words: reproductive tract microflora, Femoflor-17, opportunistic and pathogenic bacteria.

1. *Анкирская А.С.* Бактериальный вагиноз / А.С. Анкирская // *Акушерство и гинекология.* – 2005. – №3. – С. 10-13.
2. *Воронин К.В.* Бактериальный вагиноз беременных: проблемы и решения / К.В. Воронин, В.И. Чуйко, Бен Саада Нахла // *Клінічна медицина.* – 2011. – Том 16, №4. – С. 1-9.
3. *Гордеева Г.Д.* Экосистема влагалища и вагинальные инфекции / Г.Д. Гордеева, Б.Г. Коган // *Здоровье женщины.* – 2008. – №3 (35). – С. 70-74.
4. *Дмитриев Г.А.* Бактериальный вагиноз / Г.А. Дмитриев, И.И. Глазко. – М.: Изд-во Бином, 2008. – 192 с.
5. *Никитенко И.Н.* Роль анаэробной условно-патогенной флоры в развитии воспалительных заболеваний мочеполового тракта / И.Н. Никитенко // *Дерматологія та венерологія.* – 2002. – №3. – С.19-23.
6. *Носенко О.М.* Метод діагностики бактеріального вагінозу в жінок репродуктивного віку за допомогою комплексної кількісної полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу з використанням тест-наборів «Фемофлор-16» / О.М. Носенко, О.І. Остапенко, Г.В. Рутинська // *Медико-соціальні проблеми сім'ї.* – 2010. – Т. 15, № 4. – С. 43-55.
7. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: приказ № 535. – [чинний від 22.04.1985р.]. – М.: МОЗ СССР, 1985. – 65 с.

8. *Писарева С.П.* Роль генітальних інфекцій у виникненні акушерських та перинатальних ускладнень / С.П. Писарева, І.І. Воробйова, С.І. Могілевська // *Здоровье женщины.* – 2010. – №4. – С. 158-160.
9. Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест Фемофлор). – М: 2011. – 36с.
10. Роль бактеріального вагінозу в розвитку запальних захворювань органів малого таза у дівчат-підлітків / О.І. Боднарюк, О.А. Андрієць, А.Л. Сакрієр [та ін.] // *Буковинський медичний вісник.* – 2011. – Т. 15, №1. – С. 17-19.
11. Clinical diagnosis of bacterial vaginosis / J.A. Simoes, M.G. Discacciati, E.M. Brolazo [et all.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2006. – Vol. 94 (1). – P. 28-32.

Отримано 20.05.2014