

УДК 618/396-039.2:618.2/5-093/-098

© М. В. Крыжановская, 2011.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛАГАЛИЩНЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ У БЕРЕМЕННЫХ ГРУППЫ ВЫСОКОГО РИСКА ПО РАЗВИТИЮ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ И ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ ВЫДЕЛЕНИЯМИ ИЗ ПОЛОВЫХ ПУТЕЙ

М. В. Крыжановская*Кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии ФИПО (зав. кафедрой – проф. В. К. Чайка),
Донецкий национальный медицинский университет, г. Донецк.*

COMPARATIVE ANALYSIS OF BACTERIOLOGICAL AND MOLECULAR-BIOLOGICAL INVESTIGATION OF VAGINAL DISCHARGE IN HIGH RISK PREGNANT WOMEN WITH ABNORMAL VAGINAL DISCHARGE M. V. Kryzhanovskaya

SUMMARY

In spite of significant cost, PCR in real-time has in disputable advantages over standard bacteriological investigation of vaginal discharge. This method could be implemented in practice for high risk pregnant women if they have abnormal vaginal discharge. This method can be useful for antibiotic choice.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ БАКТЕРІОЛОГІЧНОГО ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ПІХВОВИХ ВИДІЛЕНЬ У ВАГІТНИХ ГРУПИ ПІДВИЩЕНОГО РИЗИКУ З РОЗВІТКУ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ ТА ПАТОЛОГІЧНИМИ ВИДІЛЕННЯМИ З ПІХВИ

М. В. Крижанівська**РЕЗЮМЕ**

Незважаючи на високу вартість, ПЛР у реальному часі має безперечну перевагу щодо стандартного бактеріологічного дослідження виділень з піхви. Даний метод може бути використаний для вагітних жінок групи високого ризику, що мають патологічні виділення з піхви для оптимального вибору антибактеріальної терапії.

Ключевые слова: выделения из влагалища, диагностика, беременность, преждевременные роды.

Проблема воспалительных заболеваний половых органов у женщин остается одной из самых важных в акушерстве и гинекологии. Удельный вес генитальных инфекций в структуре материнской и перинатальной заболеваемости составляет около 60%. Сегодня возникновение генитальных инфекций в значительной мере обусловлено патологической аутофлорой с преобладанием смешанных микробных ассоциаций бактерий аэробов и/или анаэробов. Учитывая важность и актуальность решения проблемы объективной лабораторной диагностики урогенитальных инфекционно-воспалительных заболеваний, вызванных условно-патогенной микрофлорой для репродуктивного здоровья женщин, возникла настоятельная потребность в разработке и внедрении в практическое здравоохранение новых диагностических подходов, позволяющих своевременно (до развития осложнений) диагностировать такие заболевания.

На современном этапе «золотым стандартом» диагностики нарушений влагалищной микрофлоры

остается культуральное исследование влагалищных выделений. Результаты посевов обычно получают не ранее 48-72 часов, однако и культуральный способ диагностики не лишен ряда серьезных недостатков. Условно-патогенная биота, являющаяся наиболее частой причиной урогенитальных заболеваний у женщин, представлена, главным образом, анаэробными микроорганизмами. Для обеспечения анаэробных условий культивирования таких микроорганизмов требуется специальное оснащение лаборатории дорогостоящим оборудованием, специальные селективные, питательные среды и высококвалифицированные врачи микробиологи [3]. Подавляющее большинство лечебных учреждений практического здравоохранения в настоящее время не имеют подобных условий. Кроме того, в последние годы молекулярно-биологическими методами был обнаружен целый ряд новых, этиологически значимых условно-патогенных микроорганизмов (*Atopobium vaginae*, *Mycoplasma genitalium* и др.), которые либо не поддаются культивированию, либо являются трудно

культивируемыми стандартной техникой [2]. Объективные и субъективные ограничения методов лабораторной диагностики, применяемые сегодня в мировой медицинской практике, приводят к большому количеству диагностических ошибок: при манифестированном БВ – более чем в 60%, при кандидозном вульвовагините – до 77%; при микст-инфекции – до 87% [4]. Все это побуждает к поиску новых подходов к оценке микрофлоры урогенитального тракта. Достижения молекулярной биологии, связанные с разработкой метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), предоставили новые возможности в изучении микробного состава различных биотопов человека. В последние годы ПЦР широко используется в лабораторной практике для качественной идентификации инфекций, передающихся половым путем, таких как трихомониаз, гонорея, ВИЧ инфекция и т.д. [1]. Преимуществом этого метода является то, что он имеет высокую специфичность и чувствительность, универсален для диагностики любых микроорганизмов и поэтому лишен недостатков, связанных с высокими требованиями ряда микроорганизмов к условиям культивирования. К достоинствам метода следует отнести также возможность тестирования большого количества любых клинических образцов.

Целью данного исследования явился сравнительный анализ результатов бактериологического и молекулярно-биологического методов обследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для реализации поставленной цели в течение четырех лет (2009-2011) мы отобрали 65 беременных женщин с преждевременными родами в анамнезе и патологическими выделениями из половых путей, состоящих на учете в женских консультациях г. Макеевки и Донецкого регионального центра охраны материнства и детства. Выбор данного контингента беременных женщин был связан с высоким риском повторных преждевременных родов и, таким образом, проведение высокоточных и дорогостоящих методов обследования было оправданным. На первом этапе было проведено культуральное исследование влагалищных выделений согласно клиническому протоколу «Перинатальные инфекции» (приказ №906), которое проводилось согласно общепринятой методике, а затем (II этап исследования) все образцы были подвергнуты молекулярно-биологической идентификации методом ПЦР в реальном режиме времени с помощью набора «Фемофлор-16» производства «НПО ДНК-Технология» (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После проведенных двух этапов исследования мы провели сравнительную оценку данных, представленных в таблице 1.

Таблица

Микроорганизмы, обнаруженные молекулярно-биологическим и культуральным методом у беременных женщин с преждевременными родами в анамнезе и вагинальным дискомфортом, n=65

Микроорганизм	Молекулярно-биологический метод	Культуральный метод
<i>Lactobacillus</i> spp., ,	62	-
<i>Enterobacterium</i> spp.,	24	10
<i>Streptococcus</i> spp.,	17	2
<i>Staphylococcus</i> spp.,	12	9
<i>Gardnerella vaginalis</i> ,	17	-
<i>Eubacterium</i> ,	3	-
<i>Atopobium vaginae</i> ,	14	-
<i>Sneathia</i> spp/ <i>Leptotrihia</i> spp,	7	-
<i>Fusobacterium</i> spp./ <i>Megasphera</i> spp / <i>Lachnobacterium</i> spp.,	2	-
<i>Peptostreptococcus</i> spp	1	-
<i>Clostridium</i> spp.,	5	-
<i>Mycoplasma</i> spp.	7	-
<i>Ureaplasma</i> spp.,	9	-
<i>Candida</i> spp.	19	28

Методом ПЦР в реальном режиме времени было идентифицировано 14 микроорганизмов влагалищной флоры. Следует отметить, что при выполнении этого метода мы получали не только качественные, но и количественные характеристики для каждого

инфекционного агента. Вместе с тем, необходимо отметить, что подсчет колоний образующих единиц при бактериологическом исследовании признан на сегодняшний день не информативным, а поэтому культуральный метод предназначен исключительно

для идентификации возбудителя и не дает представления о его количественных характеристиках.

Несмотря на то, что все женщины активно предъявляли жалобы на вагинальный дискомфорт, культуральным методом было обнаружено крайне небольшое количество микроорганизмов. У 40% женщин были выделены грибы рода *Candida*. Необходимо отметить, что при проведении количественной ПЦР, диагностически значимое количество данного возбудителя было обнаружено лишь у двух третей пациенток. По данным молекулярно-биологического исследования, 9 беременных женщин с установленным диагнозом вагинальный кандидоз не имели превышения порогового значения для данного возбудителя. С помощью ПЦР в реальном режиме времени у женщин с кандидоносительством был обнаружен *Atopobium vaginalis*, представители семейства клостридий и другие анаэробы в значительном количестве, требующие терапии препаратами нитроимидазолового ряда. Необходимо отметить, что культуральным методом были обнаружены исключительно представители факультативно-анаэробной флоры и аэробы. Так, на втором месте по частоте идентификации культуральным методом были представители семейства *Enterobacter* spp. Однако и в этом случае необходимо отметить, что лишь в половине случаев метод ПЦР в реальном режиме времени подтвердил превышение порога грамотрицательной флоры.

В настоящее время культивирование анаэробной флоры представляет значительные технические трудности, а финансовые затраты не уступают методу количественной ПЦР, а иногда и значительно превосходит ее. Таким образом, в условиях акушерско-гинекологических отделений и женских консультаций

со стандартным лабораторным оборудованием в настоящий момент невозможно, а в большинстве случаев и нецелесообразно исследование анаэробной флоры культуральным методом.

ВЫВОДЫ

Несмотря на высокую стоимость, ПЦР в реальном режиме времени имеет неоспоримые преимущества перед стандартным бактериологическим исследованием выделений из влагалища. Данный метод может быть использован у беременных женщин группы высокого риска при наличии патологических влагалищных выделений для оптимального выбора антибактериальной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Backer E. Quantitative determination by real-time PCR of four vaginal *Lactobacillus* species, *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* indicates an inverse relationship between *L. gasseri* and *L. Iners* / E. De Backer, R. Verhelst, H. Verstraelen // *BMC Microbiology*. – 2007. – № 7. – P. 115.
2. Oakley B. B. Diversity of Human Vaginal Bacterial Communities and Associations with Clinically Defined Bacterial Vaginosis / B. B. Oakley, T. L. Fiedler, J. M. Marrazzo // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2008. – № 8. – P. 4898–4909.
3. Schwiertz A. Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints? / A. Schwiertz, D. Taras, K. Rusch // *Annals Clinical Microbiology & Antimicrobials*. – 2006. – № 5. – P. 4.
4. Thies F. L. Rapid characterization of the normal and disturbed vaginal microbiota by application of 16S rRNA gene terminal RFLP fingerprinting / F. L. Thies, W. König, B. König // *J. Medical Microbiology*. – 2007. – Vol. 56, № 7. – P. 755–761.