

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОФЛОРИ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ ЖІНОК ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДУ ПЛР

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара (м. Дніпро)

ksusha12081993@gmail.com

Дослідження виконані у рамках реалізації завдань держбюджетної теми №1-294-15 «Структурно-функціональні властивості природних мікробіоценозів та механізми біологічної дії мікробних препаратів».

Вступ. Сьогодні проблема інфекцій урогенітального тракту у жінок набула особливої актуальності. Це обумовлено тим, що за даними численних досліджень, за останні кілька років значно зросла їх поширеність. При цьому відмічається переважаючі малосимптомних і латентних форм, що ускладнює діагностику і лікування. Це, у свою чергу, сприяє подальшому поширенню інфекцій урогенітального тракту серед населення [13,14].

Видовий склад мікрофлори жіночих статевих органів досить стабільний. Певні відмінності обумовлені віком, вагітністю, фазою менструального циклу. Порожнина матки, маткових труб і яєчників у нормі стерильні [1]. Нормальна мікрофлора жіночих статевих органів надзвичайно різноманітна і представлена аеробними, факультативними та анаеробними мікроорганізмами, причому анаероби у видовому і кількісному відношенні домінують [2,15]. У 87-100% здорових жінок репродуктивного віку виявляють аеробні мікроорганізми. З них переважно виявляють лактобактерії (45-88%), стрептококи (53-68%), ентерококи (27-32%), коагулазонегативні стафілококи (34-92%). При виникненні уражень статевих шляхів у понад 90% всіх випадків виявляють уропатогенні мікроорганізми, які відносяться в першу чергу до грамнегативних бактерій – представників родини *Enterobacteriaceae* (*Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*), *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, і з грампозитивних *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus saprophyticus* [10].

Мікробна флора регулює роботу всього організму, тому вивчення її складу має велике значення для можливості попередження інфекцій, у тому числі й сечовивідних шляхів, що посідають провідне місце у структурі інших інфекційних захворювань жінок.

За допомогою якісної та швидкої діагностики, яку можна здійснити за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції можливо легко виявити хворобу навіть в латентний період. Тому якісна та своєчасна діагностика інфекційних досягнення успішної профілактики та лікування інфекційних захворювань [9].

Мета дослідження: визначити склад мікрофлори урогенітального тракту жінок за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції при підозрі на інфекційне ураження.

Об'єкт і методи дослідження. Для реалізації мети роботи обстежено біологічний матеріал (зіскрібки епітеліальних клітин з піхви, уретри, цервікального каналу), який було отримано від 135 жінок віком від 16 до 56 років. Дослідження виконані на базі молекулярно-генетичної лабораторії ПРЦ ТОВ «Незалежна лабораторія ІНВІТРО» з використанням методу ПЛР. Для дослідження біологічного матеріалу використано тест-систему «Фемофлор-Скрин» (ТОВ «НПО ДНК-Технологія», РФ) та ампліфікатор ДТ-96/ДТ-322 (ТОВ «НПО ДНК-Технологія», РФ) в режимі Real time, що дозволяє отримати повну кількісну характеристику мікрофлори піхви та диференціювати стан фізіологічної рівноваги та дисбактеріозу. Визначали одночасну присутність збудників інфекційних захворювань та умовно-патогенних мікроорганізмів (УПМ) у складі мікрофлори піхви. Стан мікрофлори визначали відповідно до критеріїв, наведених у інструкції до використання тест-набору [8] та загальних клінічних критеріїв [11], відповідно до яких виявлення патогенних мікроорганізмів визначали як інфекційне ураження, а виявлення умовно-патогенних мікроорганізмів окремо розцінювалося як дисбіоз.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням програми Origin Lab 7.5 Pro.

Результати досліджень та їх обговорення. При обстеженні 135 жінок за допомогою методу ПЛР з використанням тест-системи «Фемофлор-скрин» жінок умовно поділено на три вікові групи: I – жінки віком від 16 до 25 років, II – жінки віком від 26 до 42 років, III – від 43 до 56 років, у яких проводили визначення складу мікробіоти урогенітального тракту (табл.).

Відомо, що до складу мікрофлори в нормі можуть входити анаеробні грамнегативні палички роду *Fusobacterium* і грамнегативні коки роду *Veillonella*. Серед транзиторних мікроорганізмів піхви частіше за інші вдається виділити коагулазонегативні стафілококи і в першу чергу *Staphylococcus epidermidis*. Крім того, *Corynebacterium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Prevotella spp.*, *Mycoplasma hominis*, присутні в помірній кількості (до 4 КУО/мл) [3,12]. Настільки ж часто, але в меншій кількості зустрічають *Micrococcus spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Veillonella spp.*, *Eubacterium spp.* Порівняно рідко (менш ніж у 10% обстежених) виявляють *Clostridium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Actinomyces spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Ureaplasma urealyticum*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria spp.*, *E. coli* та інші колиформні бактерії; *Mycoplasma fermentans*, *Candida spp.* *Mycoplasma hominis* і *Gardnerella vaginalis* висівають з матеріалу 10-75%

Таблиця.
Частота виявлення збудників уражень
урогенітального тракту жінок різних
вікових груп (n=135)

Назва збудника	Вікова категорія		
	16-25	26-42	43-56
Облігатно-анаеробні мікроорганізми			
<i>Gardnerella vaginalis</i>	24,3%	23,1%	22,2%
Дріжджоподібні гриби			
<i>Candida spp.</i>	19,6%	28,2%	24,8%
Мікоплазми			
<i>Mycoplasma hominis</i>	7,3%	8,1%	18,2%
<i>Ureaplasma spp.</i>	18,2%	16,4%	9,3%
Патогенні мікроорганізми			
<i>Trichomonas vaginalis</i>	5,8%	2,4%	1,8%
<i>Chlamydia trachomatis</i>	6,2%	5,3%	3,4%
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2,4%	1,6%	1,9%

здорових жінок без будь-якої клінічної симптоматики [4,5].

У наших дослідженнях при обстеженні жінок за допомогою методу ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу з використанням тест-системи «Фемофлор-скрин» серед жінок різного репродуктивного віку було виділено 108 штамів умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів.

Серед I вікової групи (16-25 років) у більшій кількості були виділені представники роду *Gardnerella vaginalis* (24,3%), *Candida spp.* (19,6%) та *Ureaplasma spp.* (18,2%). У II віковій групі (26-42 років) також переважно виявлюваними групами мікроорганізмів були дріжджоподібні гриби роду *Candida spp.* (28,2%), *G. vaginalis* (23,1%) та *Ureaplasma spp.* (16,4%). У III віковій групі (43-56 років) у найбільшій

кількості було виділено *Candida spp.* (24,8%), *G. vaginalis* (22,2%) та *Mycoplasma hominis* (18,2%).

Цікаво відмітити, що *G. vaginalis* у всіх групах виявлялася практично з однаковою частотою, що підтверджує її роль у розвитку дисбіотичних розладів у жінок різного віку. Також слід відмітити, що частота виявлення кандид у жінок *Candida spp.* була значно вищою у жінок старших вікових груп II і III. Таке значне виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida spp.* у жінок різних вірогідно може бути пов'язано зі зниженням імунного статусу, зменшенням захисних сил макроорганізму та наявністю або перенесенням хронічних захворювань [6,7].

Висновки

1. З використанням тест-системи «Фемофлор-Скрин» було встановлено, що у складі мікробіоти уrogenітального тракту жінок репродуктивного віку переважно виявляються *G. vaginalis* – 23,2%, *Candida spp.* – 24,2%, *Ureaplasma spp.* – 14,6% та *M. hominis* – 11,2%.

2. З патогенних мікроорганізмів у окремих випадках визначали: *Trichomonas vaginalis* – 3,3%, *Chlamydia trachomatis* – 4,9%, *Neisseria gonorrhoeae* – 1,9%.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження мікрофлори репродуктивних шляхів з метою виявлення різних мікроорганізмів при безсимптомному носійстві є одним з ключових питань сучасної клінічної медицини, що дозволяє виявити інфекційний процес і розпочати його вчасне лікування. Особливого значення у цьому сенсі набуває молекулярно-генетична діагностика, зокрема, метод полімеразної ланцюгової реакції, що дозволяє визначити наявність не лише важкокультивованих форм, а також присутність мікроорганізмів у надмалих кількостях. Все це вказує на необхідність подальшого здійснення моніторингу інфекційних та неінфекційних уражень репродуктивного тракту.

Література

- Anastaseva V.G. Sovremennyye metody diagnostiki, lecheniya i profilaktiki bakterialnogo vaginoza / V.G. Anastaseva. – Novosibirsk: Media, 2007. – 17 s.
- Bayramova G.R. Hronicheskiy retsidiviruyuschiy vulvovaginalnyiy kandidioz i patologiya sheyki matki / G.R. Bayramova // Ginekologiya. – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 26-28.
- Vorobev A.A. Disbakterioz – aktualnaya problema meditsiny / A.A. Vorobev, N.A. Abramov, V.M. Bondarenko, B.A. Shenderov // Vestnik RAMN. – 2007. – № 11. – С. 12-18.
- Korchinska O.O. Mikroekologichna systema pikhvy / O.O. Korchinska. – K: Expert, 2006. – 70 s.
- Mikroekologiya vlagalishcha. Korrektsiya mikroflory pri vaginalnyih disbakteriozah / N.N. Volodina [i dr.]; pod red. V.M. Korshunova. – M.: Media, 2001. – 350 s.
- Nazarova E.K. Mikrobiotsenoz vlagalishcha i ego narusheniya / E.K. Nazarova, E.I. Gimmelfarb, L.G. Sozaeva // Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. – 2003. – № 2. – С. 25-32.
- Pobedinskiy N.M. Kliniko-bakteriologicheskoe obosnovanie kompleksnogo lecheniya bakterialnogo vaginoza u zhenschin reproduktivnogo vozrasta / N.M. Pobedinskiy, O.A. Aksenova, M.G. Aksenova, V.A. Molochkov // Akusherstvo i ginekologiya. – 2006. – № 6. – С. 24-27.
- Primenenie metoda polimeraznoy tsepnoy reaktsii v realnom vremeni dlya otsenki mikrobiotsenozu urogenitalnogo trakta u zhenschin (test Femoflor). – M: 2011. – 36 s.
- Rahmatulina M.R. Diagnosticheskie i terapevticheskie aspekty vedeniya patsientok s bakterialnyim vaginozom / M.R. Rahmatulina // Ginekologiya. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 27-32.
- Hryanin A.A. Bakterialnyiy vaginoz: novyye predstavleniya o mikrobnom biosotsiume i vozmozhnosti lecheniya / A.A. Hryanin, O.V. Reshetnikov // Meditsinskiy sovet. – 2014. – № 17. – С. 128-133.
- Clinical diagnosis of bacterial vaginosis / J.A. Simoes, M.G. Discacciati, E.M. Brolazo [et al.] // Int. J. Gynaecol. Obstet. – 2006. – Vol. 94 (1). – P. 28-32.

12. Diagnostic and therapeutic advancements for aerobic vaginitis / C. Han, W. Wu, A. Fan [et al.] // Arch. Gynecol. Obstet. – 2015. – Vol. 291 (2). – P. 251-257.
13. Donders G.G. Treatment of bacterial vaginosis: what we have and what we miss / G.G. Donders, J. Zozzika, D. Rezeberga // Expert Opin. Pharmacother. – 2014. – Vol. 15 (5). – P. 645-657.
14. Sherrard J. European (IUSTI/WHO) Guideline on the Management of Vaginal Discharge / J. Sherrard, G. Donders, D. White // Int. J. STD AIDS. – 2011. – № 22. – P. 421-429.
15. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques / R.F. Lamont, J.D. Sobel, R.A. Akins [et al.] // BJOG. – 2011. – Vol. 118 (5). – P. 533-549.

УДК 579.61+616.9

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОФЛОРИ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ ЖІНОК ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДУ ПЛР

Сейма О. Є., Воронкова О. С.

Резюме. З використанням тест-системи «Фемофлор-Скрин» у складі мікрофлори урогенітального тракту жінок репродуктивного віку при підозрі на інфекційне ураження показано переважання наступних умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів: *G. vaginalis* – 23,2%, *Candida spp.* – 24,2%, *Ureaplasma spp.* – 14,6%, *M. hominis* – 11,2%, *T. vaginalis* – 3,3%, *C. trachomatis* – 4,9%, *N. gonorrhoeae* – 1,9%.

Ключові слова: фемофлор-скрин, полімеразна ланцюгова реакція, мікрофлора урогенітального тракту, жінки.

УДК 579.61+616.9

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИН С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПЦР

Сейма О. Е., Воронкова О. С.

Резюме. С использованием тест-системы «Фемофлор-Скрин» в составе микрофлоры урогенитального тракта женщин репродуктивного возраста при подозрении на инфекционное поражение показано преобладание следующих условно-патогенных и патогенных микроорганизмов: *G. vaginalis* – 23,2%, *Candida spp.* – 24,2%, *Ureaplasma spp.* – 14,6%, *M. hominis* – 11,2%, *T. vaginalis* – 3,3%, *C. trachomatis* – 4,9%, *N. gonorrhoeae* – 1,9%.

Ключевые слова: фемофлор-скрин, полимеразная цепная реакция, микрофлора урогенитального тракта, женщины.

UDC 579.61+616.9

THE STUDY OF MICROFLORA OF UROGENITAL TRACT OF WOMEN BY PCR METHOD

Seima O. Ye., Voronkova O. S.

Abstract. Today the problem of infections of the urogenital tract of women has become very urgent. This is due to the fact that according to numerous studies, over the past few years their prevalence has significantly increased. The prevalence of hidden and latent forms, which complicates the diagnosis and treatment. This, in turn, contributes to the further spread of infections of the urogenital tract among the population. In the event of injury of the genital tract, in more over 90% of all cases uropathogenic microorganisms are detected. First of all are the gram-negative bacteria – representatives of family *Enterobacteriaceae* (*Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*), *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, and gram-positive *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus saprophyticus*, and obligate pathogenic microorganisms. Microbial flora regulates the state of the whole organism, so studying its composition have a great importance for the prevention of infections, including the urinary tract, which occupy a leading place in the structure of other infectious diseases of women. With the help of qualitative and rapid diagnostics, which can be carried out using the polymerase chain reaction method, it is possible to easily detect the disease, even in the latent period. Therefore, qualitative and timely diagnosis of infectious achievement of successful prevention and treatment of infectious diseases.

The aim of the research was to determine the composition of the micro flora of the urogenital tract of women by the polymerase chain reaction method if the infectious lesion is suspected. For the realization of the aim of the research, the biological samples (scrap of epithelial cells from the vagina, urethra, cervical canal), which was obtained from 135 women aged 16 to 56 years, were examined. To test biological material using the Real time PCR method, the test system “Femoflor-Skrin” was used. During the examination of biological material from women, 108 strains of opportunistic and pathogenic microorganisms were isolated. Among the first age group (16-25 years old), representatives of the genus *Gardnerella vaginalis* (24.3%), *Candida spp.* (19.6%) and *Ureaplasma spp.* (18.2%) were identified. In the second age group (26-42 years), also the most frequently detectable groups of microorganisms were yeast-like fungi of the genus *Candida spp.* (28.2%), *G. vaginalis* (23.1%) and *Ureaplasma spp.* (16.4%). In the third age group (43-56 years) *Candida spp.* was identified in the largest number (24.8%), *G. vaginalis* (22.2%) and *Mycoplasma hominis* (18.2%). It is interesting to note that *G. vaginalis* in all groups was almost the same frequency, which confirms its role in the development of dysbiosis in women of all ages. It should also be noted that the yeast detection rate for *Candidia spp.* was significantly higher in women of the older age groups II and III. Research of reproductive micro flora with the purpose of detection of various microorganisms at asymptomatic carrier is one of the key issues of modern clinical medicine, which allows to identify the infectious process and start its timely treatment. Main importance in this sense is acquired by molecular genetic diagnostics, in particular, the method of polymerase chain reaction, which allows to determine the presence of not only severely-cultivated forms, as well as the presence of microorganisms in excessive quantities.

Keywords: femoflor-screen, polymerase chain reaction, micro flora of urogenital tract, women.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.
Стаття надійшла 10.08.2017 року