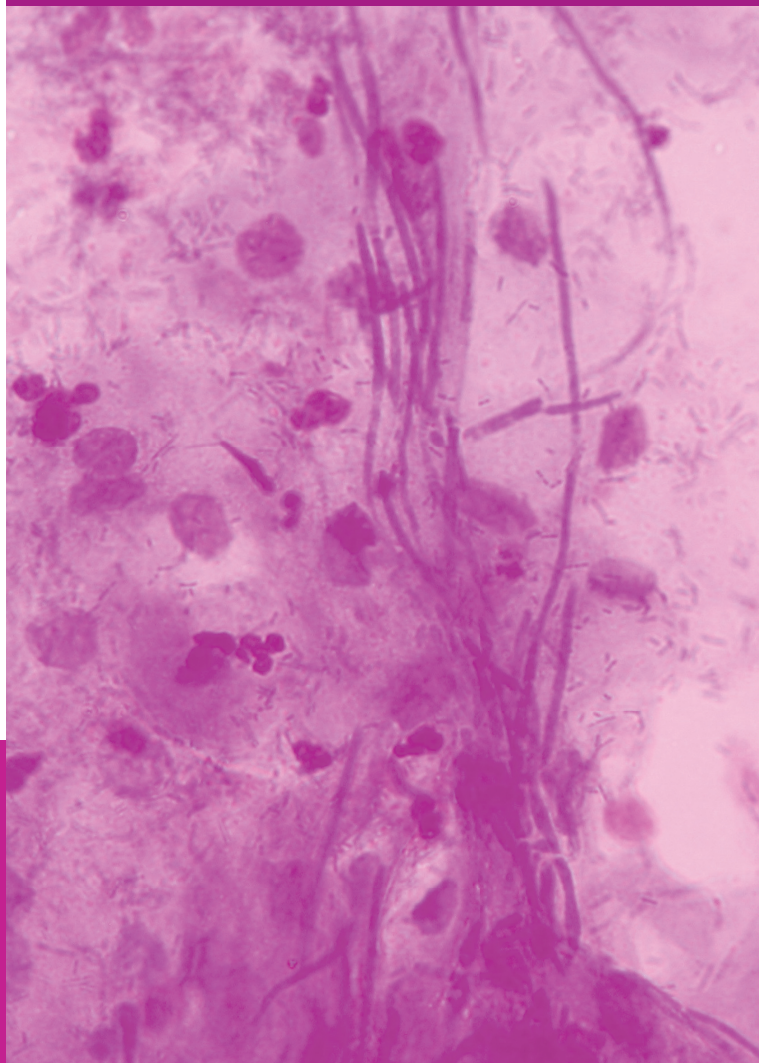


ФЕМОФЛОР®: КОРОТКО О ГЛАВНОМ

Ответы на основные
вопросы врачей
по диагностике
репродуктивно
значимых инфекций



www.dna-technology.ru

ОБ АВТОРАХ



**Савичева
Алевтина Михайловна**

доктор медицинских наук,
профессор, заслуженный деятель
науки РФ, заведующая отделом
медицинской микробиологии,
заведующая лабораторией

клинической микробиологии НИИ акушерства,
гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта,
заведующая кафедрой клинической лабораторной
диагностики Санкт-Петербургского государственного
педиатрического медицинского университета
(г. Санкт-Петербург).



**Кира
Евгений Федорович**

доктор медицинских наук,
профессор, академик РАЕН,
заслуженный деятель науки РФ,
заслуженный врач РФ,
заведующий кафедрой женских

болезней и репродуктивного здоровья ФГБУ
«Национальный медико-хирургический Центр
им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, врач акушер-гинеколог
высшей категории (главный специалист).



**Болдырева
Маргарита Николаевна**

д.м.н., медицинский директор
компании «ДНК-Технология».



**Галкина
Ирина Сергеевна**

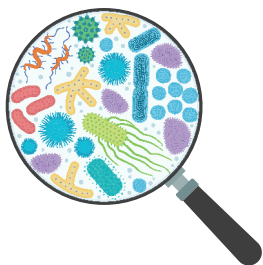
к.х.н., директор по маркетингу
компании «ДНК-Технология».

СОДЕРЖАНИЕ

1. Зачем в тесте так много микроорганизмов? Почему нельзя ограничиться традиционным скринингом на ИППП?
2. Какие возможности открывает ПЦР при анализе урогенитальной микробиоты?
3. В чем преимущества теста Фемофлор® по сравнению с другими методами диагностики?
4. Кто придумал Фемофлор® и где его используют?
5. Какие показания к назначению тестов Фемофлор® Скрин и Фемофлор®16?
6. Какой клинический материал направлять на исследования Фемофлор® Скрин и Фемофлор®16?
7. Какие особенности есть во взятии материала на Фемофлор®?
8. Как прочесть бланк?
9. Можно ли отправлять на Фемофлор® биоматериал мужчин?
10. Рекомендовано ли обследовать пару (половых партнеров) при хронических инфекционно-воспалительных процессах?
11. Почему не совпадают результаты посева и теста Фемофлор®?
12. Зачем для диагностики бактериального вагиноза назначать Фемофлор®?
13. Можно ли из одной пробирки назначить Фемофлор®16, скрининг на основные патогены и ВПЧ? Кому и когда рекомендована такая комплексная диагностика?
14. Почему я получаю ответ не в виде таблицы с маркерами и гистограммы, а просто в виде цифровых значений? Как трактовать такой результат?
15. Рекомендовано ли для диагностики инфекций одновременно назначать несколько методов?
16. Соответствует ли Фемофлор® современным зарубежным тенденциям?
17. Сколько в среднем выполняется тест?
18. Так ли важна идентификация конкретного возбудителя, если можно использовать противомикробные препараты широкого спектра действия?
19. Нужно ли назначать Фемофлор® беременным? Есть ли отличия в трактовке результата?
20. Целесообразно ли применять Фемофлор®16 и Фемофлор® Скрин для обследования пациенток с невынашиванием беременности, бесплодием и другими репродуктивными проблемами при подготовке к программам ВРТ?
21. Можно ли назначать Фемофлор® женщинам, принимающим МГТ? Как оценивать результат?
22. Почему в тесте Фемофлор® нет *E. coli*?
23. Всегда ли в составе микробиоты женщин с подтвержденным диагнозом «аэробный вагинит» доминируют аэробы? Могут ли быть исключения?

01

ЗАЧЕМ В ТЕСТЕ ТАК МНОГО МИКРООРГАНИЗМОВ? ПОЧЕМУ НЕЛЬЗЯ ОГРАНИЧИТЬСЯ ТРАДИЦИОННЫМ СКРИНИНГОМ НА ИППП?



По итогам международного проекта Vaginal Human Microbiome Project установлено, что у здоровых женщин в составе вагинального биотопа может присутствовать более тысячи видов микроорганизмов – представителей нормальной и условно-патогенной микробиоты (микрофлоры). В большинстве случаев главный критерий нормы в репродуктивном возрасте – доминирование лактобацилл, поэтому задача современной диагностики изменилась: необходим не только поиск отдельных возбудителей ИППП, но и комплексная оценка микробиоты – результаты тестирования на патогены + определение соотношений нормальной и условно-патогенной

микробиоты. По статистике, более 80% заболеваний, с которыми женщина обращается к гинекологу, – это не ИППП (на их долю приходится меньше 10%), а симптомокомплексы, в основе которых – дисбаланс микробиоты. Для диагностики таких состояний и разработан тест Фемофлор®.

КАКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОТКРЫВАЕТ ПЦР ПРИ АНАЛИЗЕ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ?

ПЦР – это чувствительный и специфичный метод, в его основе – идентификация и количественный учет фрагментов генома. Это инструментальная методика, поэтому риск некорректной, субъективной оценки результатов теста сведен к минимуму. Поскольку ПЦР – не культивационная технология, жесткие требования к сохранению жизнеспособности микроорганизмов до поступления биоматериала в лабораторию неактуальны. Кроме того, ПЦР позволяет определять некультивируемые и труднокультивируемые микроорганизмы.

Технология ПЦР в реальном времени предназначена для количественной и качественной оценки, ее результаты позволяют установить, нарушен или нет баланс микробиоты, а при дисбалансе – выявить доминирующую группу условно-патогенных бактерий (рис. 1).

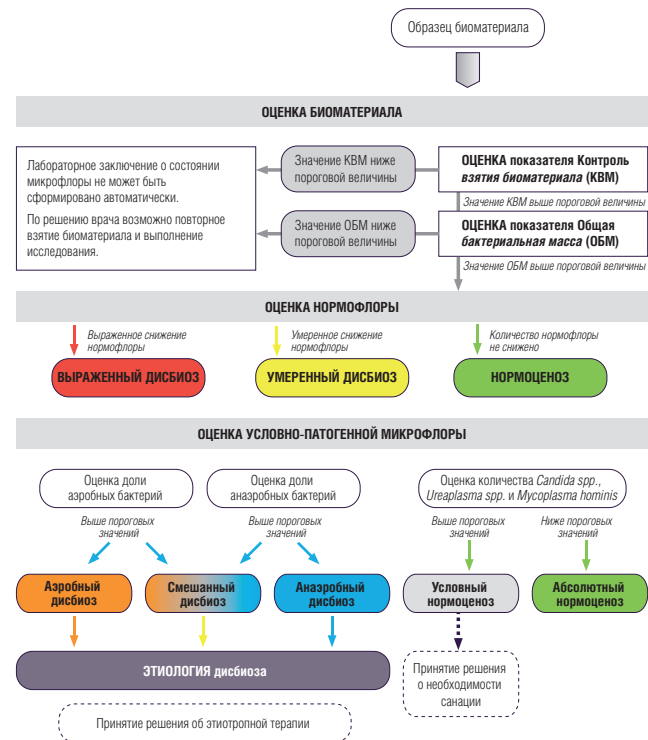


Рис. 1. Алгоритм интерпретации результатов исследования Фемофлор®

В ЧЕМ ПРЕИМУЩЕСТВА ТЕСТА ФЕМОФЛОР® ПО СРАВНЕНИЮ С ДРУГИМИ МЕТОДАМИ ДИАГНОСТИКИ?

Обследование целесообразно начинать с pH-метрии, этот метод обладает достаточной чувствительностью и специфичностью и во многих странах является первой линией скрининга. Если в отсутствие клиники и симптомов установлены нормальные значения pH, то дальнейшее обследование не требуется. **В случаях сдвига показателя кислотности в щелочную сторону (4,5-7,5) необходима дальнейшая дифференциальная диагностика с применением тестов Фемофлор®.**

Микроскопия – быстрый, привычный и недорогой способ экспресс-оценки состава микробиоты и наличия/отсутствия воспаления (на основе подсчета лейкоцитов). Однако **при микроскопии описываются только морфологические признаки, без количественной оценки и установления видовой принадлежности микроорганизмов.**

Метод субъективный, хорошо знакомые врачам термины «флора палочковая» или «доминируют лактоморфотипы» означают наличие в препарате широкой группы микроорганизмов, внешне похожих на лактобациллы (лактобациллы, в основном анаэробные микроорганизмы).

Микроскопический метод оценки микробиоценоза влагалища в руках опытного, специально обученного врача-лаборанта – незаменимый метод, который может быть использован вместе с тестом Фемофлор®. **А оценка микробиоценоза должна включать не только количество лейкоцитов и морфотип бактерий, но и обязательно отношение лейкоцитов к эпителию, наличие или превалирование лактобацилл, наличие базальных/парабазальных клеток, «ключевых» клеток, их дифференцировка от ложноключевых клеток и многие другие параметры.**

МНЕ ХВАТАЕТ МИКРОСКОПИИ? ДОСТАТОЧНО БАКПОСЕВА? ДОСТАТОЧНО ОПРЕДЕЛИТЬ pH?

Надо отметить, что «ключевые» клетки могут быть признаками бактериальных пленок, этот факт имеет большое значение для выбора терапии при выявлении условно-патогенных бактерий.

Применение микроскопических критериев, широко используемых за рубежом для установления клинических диагнозов аэробного вагинита и бактериального вагиноза (критерии Дондерса, Ньюджента, Айсон-Хэй), в России затруднено или невозможно по причине редкого использования гинекологами практики микроскопического исследования нативного (влажного) мазка и массового применения в лабораториях окраски препаратов метиленовым синим (вместо окраски по Граму).

Бактериологические (культуральные) методы долгое время оставались золотым стандартом диагностики и до настоящего времени распространены среди врачей, прежде всего, из-за возможности определить не только видовую принадлежность микроорганизмов, но и их антибиотикочувствительность.

Однако все это справедливо в отношении микроорганизмов, если удастся:

- ◆ сохранить их жизнеспособность на этапах взятия, хранения и транспортировки биоматериала;
- ◆ культивировать на питательных средах.

То есть **все вирусы и строгие анаэробы остаются вне рамок бактериологического (культурального) исследования.**

Фемофлор® можно рассматривать как быстрый и точный инструмент для выявления некультивируемых микроорганизмов — возможных возбудителей инфекционно-воспалительного процесса — как для установления диагноза, так и для контроля терапии.

04

КТО ПРИДУМАЛ ФЕМОФЛОР® И ГДЕ ЕГО ИСПОЛЬЗУЮТ?

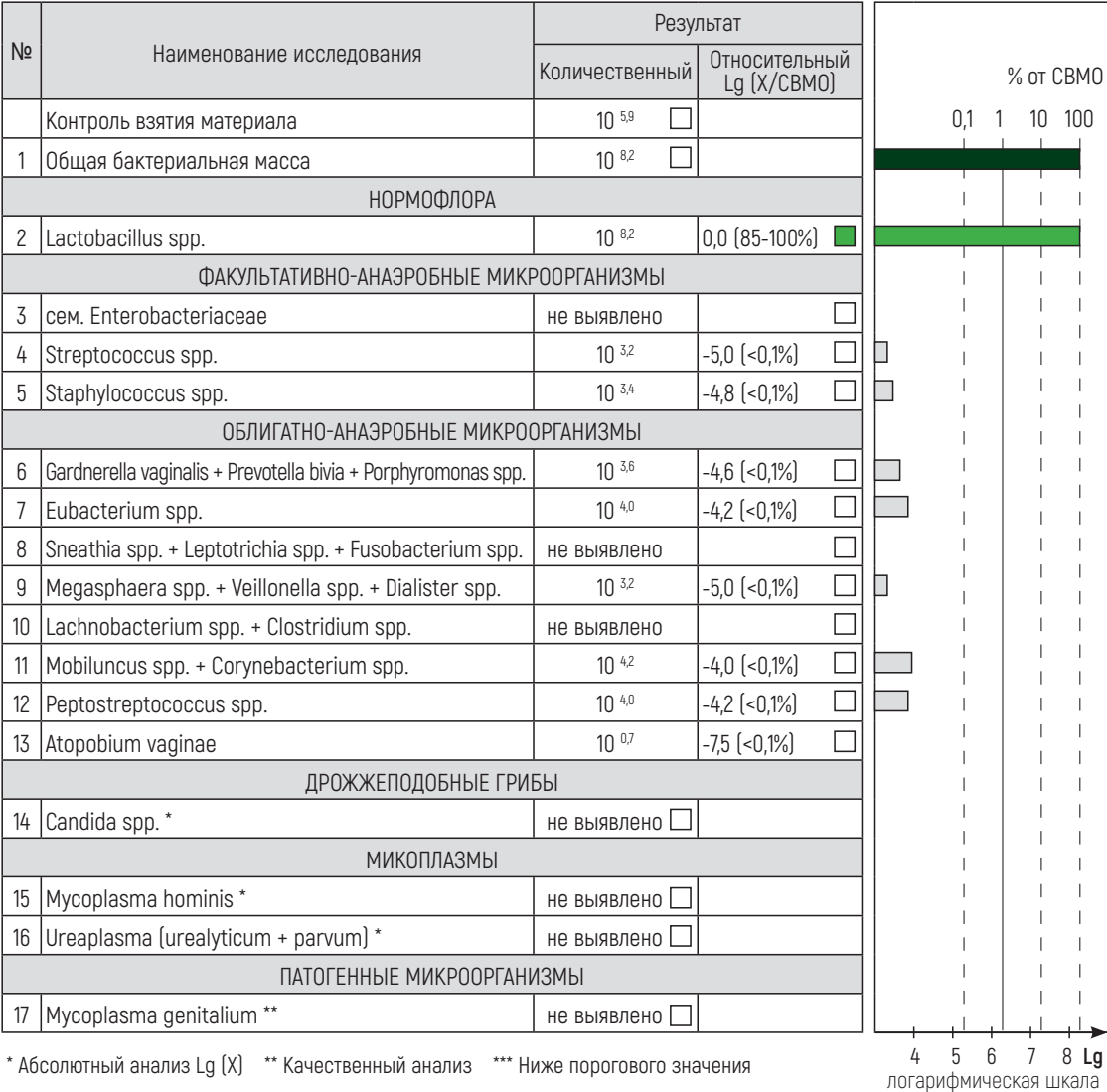
Авторы технологии Фемофлор® – группа российских врачей и ученых. Тест создавался, апробировался и дорабатывался для использования в практике акушеров-гинекологов, дерматовенерологов, хотя часто используется и в научных исследованиях.

Большая часть работы, особенно при определении формы выдачи и трактовки результатов (рис. 2-3), проводилась вместе с врачами ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» и ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта». Сейчас Фемофлор® активно используется в России и 54 странах мира для решения вопросов, связанных с точной диагностикой репродуктивно значимых инфекций.



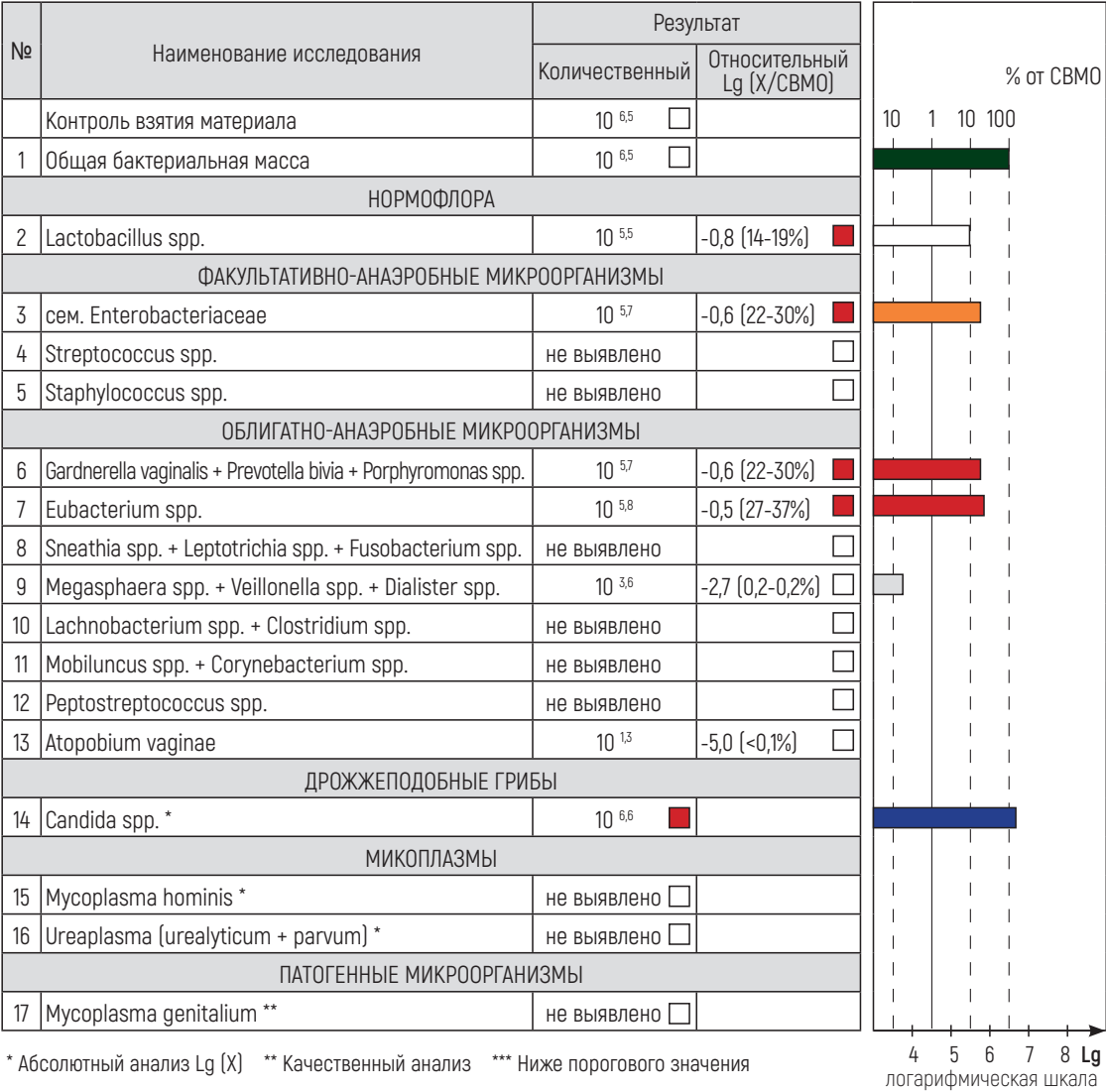
**ФГБУ НМИЦ АГП
им. В.И. Кулакова**





Заключение:
АБСОЛЮТНЫЙ НОРМОЦЕНОЗ

Рис. 2. Нормальное состояние микробиоты влагалища условно здоровой женщины репродуктивного возраста



Заключение:
ВЫРАЖЕННЫЙ СМЕШАННЫЙ ДИСБИОЗ

Рис. 3. Нарушение нормального состояния микробиоты влагалища у женщины репродуктивного возраста с неспецифическим вульвовагинитом

КАКИЕ ПОКАЗАНИЯ К НАЗНАЧЕНИЮ ТЕСТОВ ФЕМОФЛОР® СКРИН И ФЕМОФЛОР®16?



Выбор теста всегда производится гинекологом в зависимости от клинической задачи и состояния пациентки, приведенные ниже рекомендации базируются в основном на составе определяемых показателей.

Фемофлор® Скрин — компактный тест, **включает комплекс основных показателей микробиоты** (возбудители ИППП, нормобиота, наиболее распространенные условно-патогенные микроорганизмы) и может назначаться для верификации диагноза при первичном обращении пациенток с жалобами, при профилактическом осмотре даже в отсутствие жалоб (мало- и бессимптомные формы заболеваний широко распространены), подготовке к программам ВРТ.

Фемофлор®16 — расширенный профиль **для детальной характеристики микробиоты**. Чаще всего его используют гинекологи для обследования пациенток с жалобами на неэффективное лечение, рецидивами заболеваний, при планировании беременности, операций на органах малого таза. Данный тест не включает полный перечень патогенов, по усмотрению врача исследование можно дополнить ПЦР-тестами на *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, вирусы — HSV-1,2, CMV, HPV (могут быть выполнены из той же пробирки с биоматериалом, что и Фемофлор®16).

06

КАКОЙ КЛИНИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ НАПРАВЛЯТЬ НА ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕМОФЛОР® СКРИН И ФЕМОФЛОР®16?

Выбор биоматериала зависит от цели диагностики и анамнеза пациентки. Наиболее удобный, востребованный и информативный для обоих тестов – биоматериал из влагалища, в силу анатомических особенностей репродуктивного тракта женщин и высокой чувствительности ПЦР-метода во влагалище достоверно обнаруживаются даже микроорганизмы, тропные к клеткам цилиндрического эпителия цервикального канала (облигатные патогены, вирусы).

Смешивать биоматериал из влагалища и цервикального канал не рекомендуется, так как это совершенно разные экологические ниши с разным эпителием и биохимическими параметрами внутренней среды. Следовательно, и видовой состав, и абсолютные количества компонентов микробиоты отличаются. Биоматериал из влагалища более информативен, и по составу его микробиоты можно косвенно судить о составе микробиоты в шейке матки, но не наоборот. Особую актуальность сейчас приобретают устройства для самостоятельного взятия биоматериала из влагалища в домашних условиях. Впоследствии материал направляется в лабораторию на Фемофлор® Скрин, Фемофлор®16 или HPV квант-21 (тестирование на ВПЧ).

В последнее время врачи часто направляют на исследование биоматериал, взятый из эндометрия с помощью пайпель-биопсии или специальных зондов с проводником. В этом случае трактовка результатов должна проводиться непосредственно лечащим врачом, обращать внимание на цветовые маркеры в результате не рекомендуется, так как в основе автоматической интерпретации данных и формирования бланка лежит алгоритм, разработанный для оценки микробиоты влагалища женщин репродуктивного возраста.

**Таблица 1. Практические рекомендации
по взятию биоматериала на исследование тестом Фемофлор®**

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ	РЕКОМЕНДАЦИИ
Применение препаратов – ингибиторов ПЦР (ультразвуковой контактный гель, гепарин, хлоргексидин и другие хлорсодержащие препараты)	Не ранее чем через 24 часа после применения препарата
Кольпоскопия	Не ранее чем через 24-48 часов после кольпоскопии
Трансвагинальное УЗИ	Не ранее чем через 24 часа после трансвагинального УЗИ
Туалет половых органов антисептическими средствами и спринцевание	Туалет половых органов водой без применения средств интимной гигиены, не проводить спринцевание накануне обследования
Использование пациенткой тампонов	Не использовать в день обследования
Незащищенный половой контакт перед обследованием	Воздержаться от незащищенных половых контактов за 48-72 часа до обследования
Защищенный половой контакт перед обследованием	Воздержаться от защищенных половых контактов за 24 часа до обследования
Местное применение пробиотиков	Не ранее чем через 2 недели после применения препаратов, содержащих микроорганизмы

Назначение исследования при приеме антибиотиков возможно (например, для мониторинга терапии), но необходимо учитывать, что антибиотикотерапия может повлиять на результаты.

КАКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЕСТЬ ВО ВЗЯТИИ МАТЕРИАЛА НА ФЕМОФЛОР®?

Никаких специальных рекомендаций по взятию клинического материала для исследования с использованием теста Фемофлор® нет. Актуальны общие требования к любому прямому методу диагностики инфекций (ПЦР классическая, ПЦР реал-тайм, микроскопия, бактериологические методы) – брать соскоб поверхностных слоев эпителия вместе с прикрепленной к ним бактериальной биопленкой, а не содержимое просвета. Область взятия биоматериала должна быть наиболее близкой к предполагаемой локализации инфекционно-воспалительного процесса. Нам часто задают вопрос: почему в тестах на одиночные возбудители ИППП методом ПЦР всегда можно получить результат (обнаружено/не обнаружено) вне зависимости от того, как был взят материал, сколько в нем было клеток и слизи, а в тестах Фемофлор® в строке значений КВМ иногда стоит красный маркер и в заключении дана рекомендация о повторном взятии биоматериала?

В исследовании Фемофлор® для снижения риска получения ложноотрицательного и/или некорректного результата по причине ошибок взятия биологического материала предусмотрена количественная оценка показателя контроля взятия материала (КВМ). Трактовка значения КВМ позволяет ответить на вопрос: достаточно ли в представленном на исследование образце клеток эпителия с микробной биопленкой для получения достоверных данных о составе микробиоты?

При этом, даже если ОБМ или КВМ ниже пороговых значений, положительный результат исследования Фемофлор® по выявлению облигатных патогенов будет являться корректным. Основные практические рекомендации по преаналитическому этапу приведены в таблице 1.

КАК ПРОЧИТАТЬ БЛАНК?

В качестве единицы измерения в исследованиях Фемофлор®16 и Фемофлор® Скрин используется геном-эквивалент (ГЭ)/образец. ГЭ – это количество генетического материала, соответствующее одному геному микроорганизма, единица измерения метода ПЦР похожа на КОЕ в микробиологическом посеве. Если необходимо установить соотношения микроорганизмов в микробиоте, то для этого используются относительные величины, доли.

В исследованиях линейки Фемофлор® значения показателей представлены в двух форматах: абсолютном и относительном.

- ◆ Абсолютные значения выражены в геном-эквивалентах (ГЭ/образец) и для микроорганизмов пропорциональны микробной обсемененности урогенитального биотопа.
- ◆ Относительные значения выражены в % и представляют долю каждого из таксонов в общем количестве бактерий. Значения представлены в виде диапазонов с учетом погрешности метода. ПЦР для каждого из микроорганизмов проводится независимо, в том числе и для показателя ОБМ (общая бактериальная масса), поэтому сумма относительных значений не обязательно будет равна 100%, складывать относительные значения некорректно.

Какие показатели входят в бланк результатов?

Контроль взятия биоматериала (КВМ) — количество клеток эпителия.

Общая бактериальная масса (ОБМ) — общее количество бактерий в образце. Данный показатель используется для оценки структуры микробиома путем определения долей конкретных микроорганизмов и групп микроорганизмов в ОБМ.

Важно учитывать, что *Candida spp.* (дрожжевые грибы), *Trichomonas vaginalis* (простейшее, одноклеточный паразит), HSV-1,2 и CMV (вирусы) не являются бактериями и не входят в состав ОБМ.

Сумма выделенных микроорганизмов (СВМО) — это математически высчитываемый параметр, который используется для оценки соотношений групп микроорганизмов в образце.

Нормобиота (нормофлора)

Нормобиота урогенитального тракта женщин представлена бактериями *Lactobacillus spp.*

Условно-патогенные микроорганизмы

УПМ можно разделить на несколько групп:

- ◆ **факультативно-анаэробные микроорганизмы** (их часто называют аэробами, они сохраняют жизне-способность и в кислородных, и в бескислородных условиях)
- ◆ **облигатно-анаэробные микроорганизмы** (их называют строгими анаэробами, так как молекулярный кислород приводит к их гибели)
- ◆ **дрожжеподобные грибы**
- ◆ **микоплазмы**

Для факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных микроорганизмов определяется доля в ОБМ.

Условно-патогенные микоплазмы (*Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*) и **дрожжевые грибы рода *Candida***: для этих показателей в бланке приводятся только абсолютные значения, относительная оценка не проводится, так как их клиническая значимость определяется по количественному содержанию в образце вне зависимости от их доли в ОБМ.

Облигатные патогены

Облигатные патогены (*Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, вирусы **HSV-1,2** и **CMV**) являются возбудителями ИППП. Их присутствие в любом количестве не является нормой, поэтому результат их детекции выдается в качественном формате. Анализ облигатных патогенов не зависит от других показателей, в том числе контрольных.

Суть исследования Фемофлор® – определение состояния микробиоты путем установления соотношений (долей) нормофлоры и условно-патогенных микроорганизмов.

Прочитать бланк результатов можно за несколько секунд, для этого:

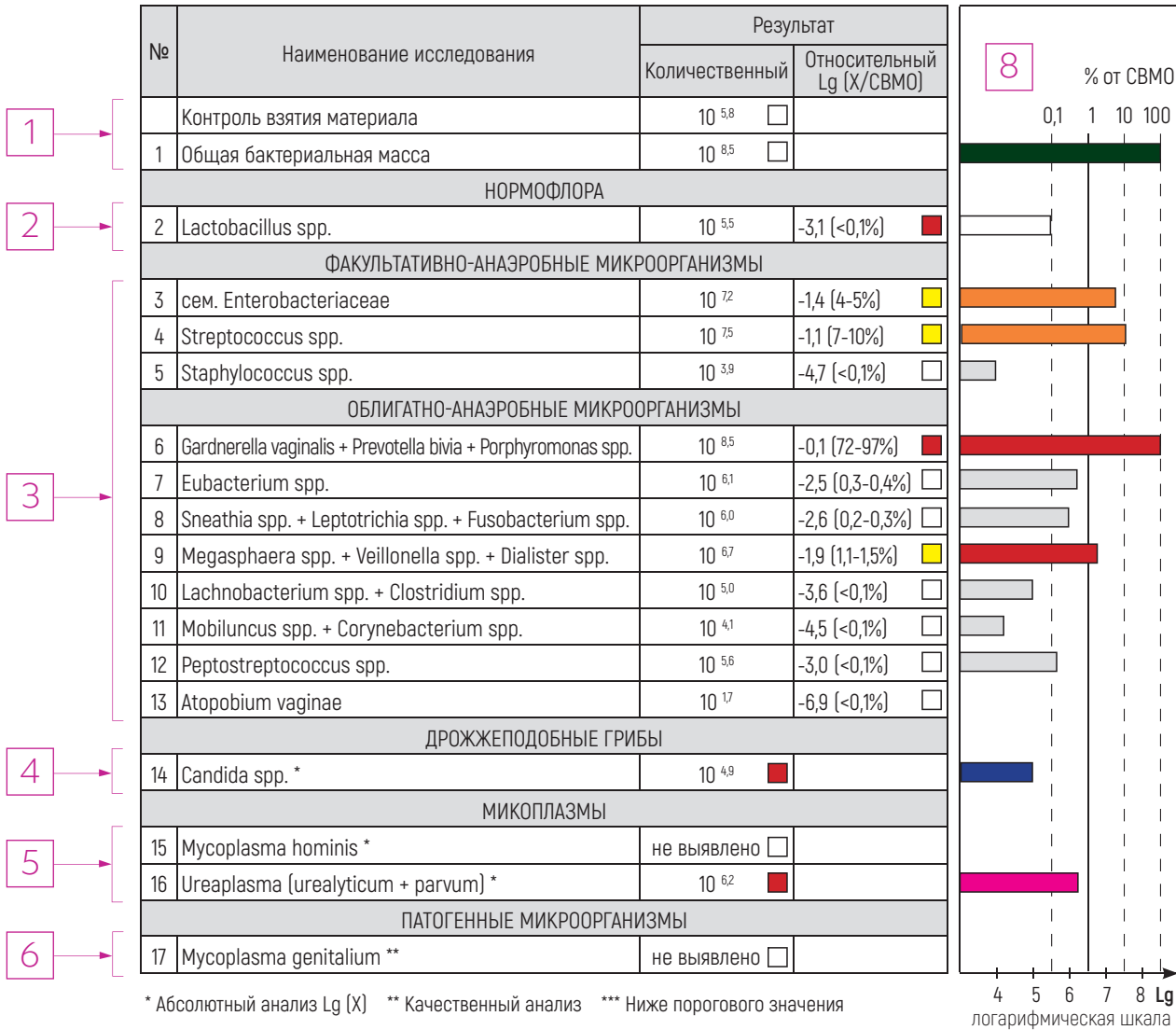
1) обратите внимание на цветные квадраты (маркеры) около цифровых значений в таблице (желтый и красный маркеры показывают степень отклонения показателя от нормы) или на наличие окраски столбиков гистограммы (цветом выделены клинически значимые отклонения от нормы у представителей УПМ).

В таблице реализована логика «светофора»: значения нормы – зеленый (лактобациллы)/прозрачный маркер (для всех других показателей, кроме нормофлоры), отклонение от нормы – желтый, патологические значения – красный. Таблица и гистограмма – это 2 варианта представления результатов исследования, можно использовать один из них;

2) прочитайте заключение, в нем указан вариант микробиоценоза.

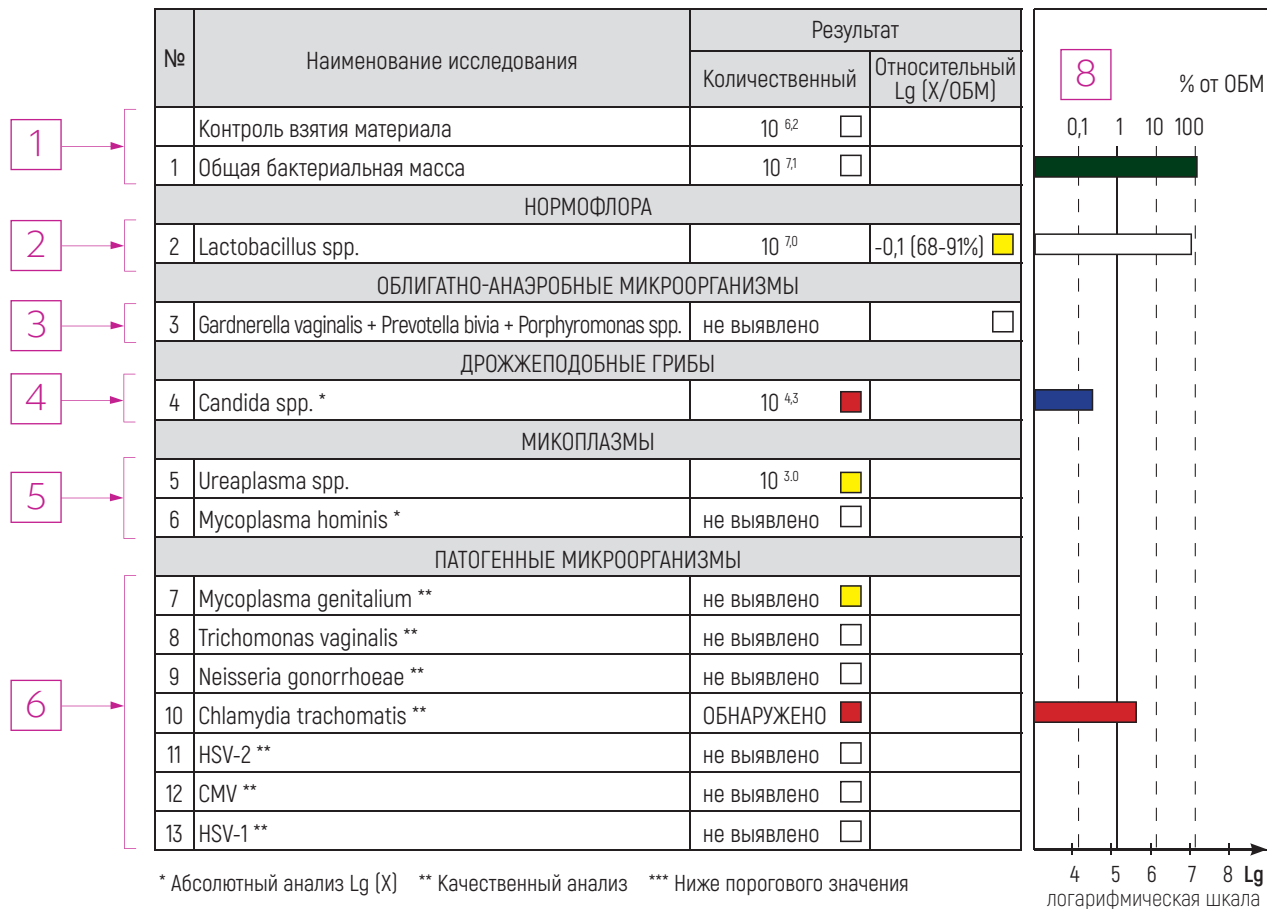
В гистограмме значение имеют длина и наличие окраски столбика: низкие значения количества условно-патогенных микроорганизмов, не пересекающие линию отсечки (1% от ОБМ/СВМО), выглядят как короткие серые столбики. Высокие значения УПМ выглядят как длинные столбики, окрашенные в цвет групп микроорганизмов (например, факультативно-анаэробные микроорганизмы имеют оранжевую окраску). Более подробно о цветовой кодировке можно прочесть в легенде на 2-й странице «Описание бланков результатов». Страница с легендой – настраиваемая в программе опция, пожалуйста, сообщите в лабораторию о желании получать 2-страничный ответ (рис. 6).

Рис. 4. Фемофлор®16: бланк результатов, страница 1



Заключение:
ВЫРАЖЕННЫЙ СМЕШАННЫЙ ДИСБИОЗ

Рис. 5. Фемофлор®Скрин: бланк результатов, страница 1



7 **Заключение:**
ОБНАРУЖЕНО: Chlamydia trachomatis, Candida spp. Доля лактобактерий в общей бактериальной массе снижена (УМЕРЕННЫЙ ДИСБИОЗ).

- 1 **Оценка биоматериала**
- Количество эпителиальных клеток (КВМ)
- Количество бактерий (ОБМ)
- 2 **Относительное содержание нормофлоры**
- 3 **Относительное содержание условно-патогенных микроорганизмов**
- 4 **Абсолютное содержание дрожжевых грибов**

- 5 **Абсолютное содержание условно-патогенных микоплазм**
- 6 **Наличие патогенов**
- 7 **Лабораторное заключение**
- 8 **ОБМ/СВМО для расчета относительных значений**

ОПИСАНИЕ БЛАНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование биоценоза урогенитального тракта у женщин методом ПЦР в режиме реального времени ФЕМОФЛОР®

Исследование проводится методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. С целью этиологической диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний репродуктивной системы женщин в анализируемом биоматериале одновременно выполняют:

- ▶ определение наличия/отсутствия патогенов (*Mycoplasma genitalium*),
- ▶ количественную оценку геномной ДНК человека (КВМ – контроль взятия биоматериала), бактериальной обсемененности (ОБМ – общая бактериальная масса), представителей нормальной и условно-патогенной микрофлоры (УПМ),
- ▶ количественную оценку грибов рода *Candida*.

Количественные результаты исследования представлены в геном-эквивалентах (ГЭ), значения которых пропорциональны микробной обсемененности урогенитального биотопа. Абсолютные значения ГЭ приводятся в столбце бланка «Результаты. Количественный».

Относительные показатели представлены в столбце бланка «Результат. Относительный» в двух форматах: в виде разницы абсолютных значений каждого из УПМ и ОБМ (Lg10) и в процентах (%). Значения в процентах (%) – традиционном формате для количественных данных – приведены для удобства клинической трактовки данных, суммировать проценты (%) некорректно.

Для дрожжеподобных грибов и микоплазм (*Candida spp.*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*) выдаются только абсолютные значения.

Для удобства трактовки результатов в таблице использована цветовая маркировка. В зависимости от измеряемого параметра маркеры обозначают следующее:

Контрольные показатели (контроль взятия биоматериала, общая бактериальная масса):

- ☐ – соответствие критериям,
- ☒ – несоответствие критериям.

Нормофлора (*Lactobacillus spp.*):

- ☒ – соответствие критериям нормы – нормоценоз,
- ☒ – умеренное отклонение от критериев нормы – умеренный дисбиоз,
- ☒ – выраженное отклонение от критериев нормы – выраженный дисбиоз.

УПМ и дрожжеподобные грибы:

- ☐ – соответствие критериям нормы,
- ☒ – умеренное отклонение от критериев нормы,
- ☒ – выраженное отклонение от критериев нормы.

Патогены

- ☐ – не выявлено,
- ☒ – обнаружено.

Дополнительно с целью визуализации результаты исследования представлены на гистограмме в процентном/логарифмическом форматах.

МОЖНО ЛИ ОТПРАВЛЯТЬ НА ФЕМОФЛОР® БИОМАТЕРИАЛ МУЖЧИН?

Нет. Фемофлор® и Андрофлор® незначительно различаются набором определяемых показателей, но существенно – алгоритмом трактовки результатов. Самостоятельно врачу оценить результат исследования биоматериала мужчин с помощью теста Фемофлор® крайне затруднительно.

Автоматическая трактовка бланка (система «светофора» в таблице и окраски столбиков на гистограмме) и заключение по результатам исследования Фемофлор® разработаны для женщин, использование этих трактовок при исследовании биоматериала мужчин может привести к ошибочным выводам.



10

РЕКОМЕНДОВАНО ЛИ ОБСЛЕДОВАТЬ ПАРУ (ПОЛОВЫХ ПАРТНЕРОВ) ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ?



Да, в данном случае рекомендовано обследовать обоих партнеров, для женщин использовать Фемофлор®, для мужчин – Андрофлор®. Оба теста выполняются с использованием одной технологии – ПЦР в реальном времени, поэтому возможно корректное сопоставление и анализ результатов обследуемых пар. По данным исследований, проводимых на базе ФГБОУ ВО ИвГМА (г. Иваново), микробиота половых партнеров может существенно различаться.

Поэтому важно проводить обследование пары, а не назначать эмпирическое и нередко малоэффективное лечение по результатам диагностики одного партнера. **В случае хронических форм заболеваний, например, бактериального вагиноза, именно факт обмена микробиотой при незащищенном половом контакте может служить триггером обострения.** Индивидуальная диагностика в этом случае может быть полезной для корректировки схем лечения каждого партнера и снижения риска наступления рецидива заболевания.

ПОЧЕМУ НЕ СОВПАДАЮТ РЕЗУЛЬТАТЫ ПОСЕВА И ТЕСТА ФЕМОФЛОР®?

11

Несовпадение результатов обусловлено принципиальными различиями двух технологий, что наиболее ярко проявляется при доминировании в составе микробиоты облигатных анаэробных бактерий и наличии вирусно-бактериальных ассоциаций.

Посев – это культивирование, идентификация и оценка антибиотикорезистентности микроорганизмов, которые выделены при бактериологическом исследовании. Результаты бактериологического исследования напрямую зависят от сохранения жизнеспособности микроорганизмов на этапах получения и транспортировки биоматериала, а также их способности к размножению на питательных средах. Узкие места посева – жесткие требования к преаналитике (температура, длительность доставки в лабораторию, использование специальных транспортных и питательных сред) и культивированию в условиях конкретной баклаборатории (наличие специального оборудования и высококвалифицированных сотрудников), трудности выделения облигатных анаэробов (отсутствие анаэроустатов, CO₂-инкубаторов и другой аппаратуры для создания анаэробных условий культивирования бактерий). Существуют труднокультивируемые микроорганизмы, такие как *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*, которые требуют особых условий культивирования. Формулировка заключения «роста нет» не обязательно соответствует отсутствию бактерий.

Фемофлор® – прямое определение количественных соотношений микроорганизмов по фрагментам ДНК, попавшим в пробирку при взятии биоматериала, независимо от их чувствительности к кислороду, жизнеспособности и возможности культивирования. В случае ПЦР-диагностики с применением теста Фемофлор® не требуется сохранять жизнеспособность микроорганизмов, однако нужно четко соблюдать рекомендации по взятию биоматериала.

Метод ПЦР не позволяет определять микроорганизмы вне перечня, входящего в исследование, поэтому в состав тестов Фемофлор® входят все клинически значимые группы микроорганизмов, «лишних» показателей в тесте нет.

Совпадение результатов бакпосева и тестов Фемофлор® продемонстрировано по хорошо культивируемым микроорганизмам (аэробам и факультативным анаэробам), микоплазмам (в стандартном посеве они определяются, требуется взятие материала в специальную транспортную среду и отдельное микробиологическое исследование на условно-патогенные микоплазмы), дрожжевым грибам рода *Candida*.

ЗАЧЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА НАЗНАЧАТЬ ФЕМОФЛОР®?



Во-первых, для подтверждения диагноза «бактериальный вагиноз» (БВ) не рекомендуются:

- ◆ культуральное исследование ввиду низкой специфичности;
- ◆ неколичественное исследование *G. vaginalis*, *A. vaginae* и/или *Mobiluncus spp.* методом молекулярно-генетического анализа (ПЦР) из-за необходимости количественной оценки условно-патогенных бактерий.

Во-вторых, назначение теста Фемофлор® целесообразно в случаях, если диагностика на основании клинических критериев Амселя затруднена, например, невозможно проведение микроскопического исследования нативного (влажного) препарата, аминного теста, pH-метрии. Также сложности могут возникнуть при использовании критериев Ньюджента и Айсон-Хэй, которые требуют окраски препаратов по Граму и высокой квалификации врача, выполняющего микроскопию мазка.

Исследования, проведенные в «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» (г. Санкт-Петербург), показали, что низкое содержание лактобацилл (<10% от ОБМ) в совокупности с повышенным содержанием облигатно-анаэробных микроорганизмов, входящих в перечень Фемофлор®16, позволяет определять бактериальный вагиноз с чувствительностью 99% и специфичностью 93%. Заключение «выраженный анаэробный дисбиоз» часто соответствует диагнозу «бактериальный вагиноз».

В «Клинических рекомендациях по диагностике и лечению заболеваний, сопровождающихся патологическими выделениями из половых путей женщин (издание 2-е, исправленное и дополненное)», утвержденных РОАГ в 2019 г., указано, что исследование Фемофлор® имеет важное диагностическое значение для выявления высоких концентраций БВ-ассоциированных микроорганизмов.

За счёт наличия в исследовании широкого перечня микроорганизмов (более 400 видов), Фемофлор® можно использовать как универсальный инструмент диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний, включая неспецифический вагинит, БВ, КВВ, микст-инфекции (Биоценоз влагалища. Норма. Нарушения. Восстановление / В.Е. Радзинский, А.М. Савичева, С.В. Воробьёв и соавт., 2023).

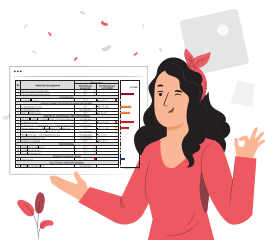
МОЖНО ЛИ ИЗ ОДНОЙ ПРОБИРКИ НАЗНАЧИТЬ ФЕМОФЛОР®16, СКРИНИНГ НА ОСНОВНЫЕ ПАТОГЕНЫ И ВПЧ? КОМУ И КОГДА РЕКОМЕНДОВАНА ТАКАЯ КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА?

Да, можно. Такие расширенные комплексные исследования целесообразно назначать при подготовке пациентки к беременности, процедурам ВРТ, гинекологическим операциям, при возникновении рецидивов инфекционно-воспалительных заболеваний, неэффективном лечении. Особые случаи – определение состояния микробиоты у пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями и ВПЧ-инфекцией. Проведение расширенного ПЦР-исследования может оказать помощь в установлении диагноза, а коррекция дисбиозов – снизить риск прогрессии ЦИН.

Метод ПЦР в режиме реального времени технически позволяет выполнить комплекс Фемофлор®16 + патогены + HPV квант-21 из одной пробирки с биоматериалом, полученным из влагалища и цервикального канала. На практике некоторые лаборатории просят собирать биоматериал для выполнения теста Фемофлор®16 и/или одиночных ПЦР-тестов в отдельные пробирки, поэтому целесообразно уточнить вопросы преаналитики перед назначением исследований.

14

ПОЧЕМУ Я ПОЛУЧАЮ ОТВЕТ НЕ В ВИДЕ ТАБЛИЦЫ С МАРКЕРАМИ И ГИСТОГРАММЫ, А ПРОСТО В ВИДЕ ЦИФРОВЫХ ЗНАЧЕНИЙ? КАК ТРАКТОВАТЬ ТАКОЙ РЕЗУЛЬТАТ?



Иногда лабораториям не удается сразу осуществить передачу данных с прибора, на котором выполняются исследования Фемофлор®, в лабораторно-информационную систему, через которую происходит выдача результатов. В этих случаях врач может получать результат в виде таблицы, иногда в ней приводятся только абсолютные значения показателей теста, без относительных значений и цветовых маркеров, что делает клиническую трактовку результатов невозможной. В этой ситуации нужно обратиться в лабораторию с просьбой выдавать результат теста Фемофлор®16

из программного обеспечения прибора.

Цветовая кодировка показателей на основании системы «светофора» создана для удобства и скорости интерпретации результата исследования, поэтому рекомендуем использовать цветной печатный бланк, при невозможности – просматривать цветной результат на компьютере или смартфоне.

РЕКОМЕНДОВАНО ЛИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ ОДНО- ВРЕМЕННО НАЗНАЧАТЬ НЕСКОЛЬКО МЕТОДОВ?

15

Алгоритм обследования конкретной пациентки — это всегда выбор лечащего врача. **Одновременное использование нескольких прямых методов целесообразно для дифференциальной диагностики воспалительных и невоспалительных заболеваний репродуктивного тракта женщины (например, вагиноз-вагинит) и корректировки лечения пациенток с редицивами заболеваний, ассоциированных с резистентными штаммами бактерий.**

При использовании любого метода (посев, Фемофлор® или др.) всегда необходимо исследовать состояние микробиоценоза влагалища с использованием микроскопии. При этом важно определять количество эпителия, соотношение лейкоцитов и эпителиальных клеток, фагоцитоз, количество лактобацилл, «ключевых», ложноключевых клеток и др. параметры. Эти показатели особенно важно учитывать, если при исследовании Фемофлор® был выявлен умеренный дисбиоз.

Важно отметить, что назначение бактериологического исследования пациенткам с выраженным анаэробным дисбиозом нецелесообразно. Это, скорее всего, бактериальный вагиноз. Можно сразу назначать антибактериальные препараты согласно российским и международным рекомендациям по лечению БВ. Если по результатам теста Фемофлор®16 получено заключение «выраженный аэробный дисбиоз», то в большинстве случаев это аэробный вагинит (АВ), и здесь врачу также поможет качественное микроскопическое исследование.

При необходимости можно также выполнить бактериологическое исследование с определением чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, хотя в документах также есть рекомендации по выбору препаратов для лечения АВ.

16

СООТВЕТСТВУЕТ ЛИ ФЕМОФЛОР® СОВРЕМЕННЫМ ЗАРУБЕЖНЫМ ТЕНДЕНЦИЯМ?

Да, последние несколько лет в мире наблюдается тенденция к использованию высокотехнологичных методов оценки микробиоты разных биотопов. В зарубежных научных статьях появляется все больше сообщений о потенциальных преимуществах использования молекулярно-генетических тестов в диагностике инфекционно-воспалительных процессов репродуктивного тракта. ПЦР вошел в клинические рекомендации CDC, IUSTI, POAG, показаны его основные преимущества над традиционными методами – высокая чувствительность и специфичность.



СКОЛЬКО В СРЕДНЕМ ВЫПОЛНЯЕТСЯ ТЕСТ?

Длительность самого исследования составляет около 3–4 часов. Часто указываемый срок выполнения 1–2 дня – это общее время, на которое влияют скорость доставки образцов в лабораторию, график постановок, повторное выполнение теста (требуется редко).



18

ТАК ЛИ ВАЖНА ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОНКРЕТНОГО ВОЗБУДИТЕЛЯ, ЕСЛИ МОЖНО ИСПОЛЬЗОВАТЬ ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ?

Важным принципом является назначение именно этиотропной терапии, основанной на идентификации возбудителей. Фемофлор®16 и Фемофлор® Скрин включают основные группы возбудителей инфекций женского УГТ, что позволяет поставить корректный диагноз и избежать необоснованного применения противомикробных препаратов. Назначение эмпирически подобранной терапии может способствовать неэффективности лечения, развитию антибиотикорезистентности, повышению риска рецидивов заболевания.

Для постановки диагноза нужно учитывать не только жалобы пациентки и клинические симптомы, но и данные лабораторно-инструментальной диагностики, поскольку не всегда беспокоящие пациентку симптомы являются патологией. Назначение противомикробных препаратов широкого спектра в таком случае может привести к нарушению влагалищного микробиома и развитию дисбиоза.

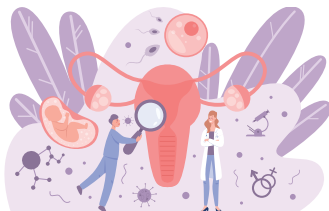
НУЖНО ЛИ НАЗНАЧАТЬ ФЕМОФЛОР® БЕРЕМЕННЫМ? ЕСТЬ ЛИ ОТЛИЧИЯ В ТРАКТОВКЕ РЕЗУЛЬТАТОВ?



Результаты исследования, проведенного в ФГБОУВО «УГМУ» (г. Екатеринбург), показывают, что у клинически здоровых беременных в отсутствие жалоб и признаков, характерных для патологии влагалища, вагинальная микробиота в основном соответствует критериям нормоценоза. Таким образом, трактовка результатов исследования Фемофлор® у беременных может проводиться по стандартным критериям.

Рутинно направлять пациенток с нормальной беременностью на исследование микробиоты не рекомендуется. Однако доминирование лактобацилл в I триместре беременности — значимый прогностический признак сохранения физиологического микробиоценоза на протяжении всей беременности. Поэтому Фемофлор® может быть назначен при подготовке к беременности, что обусловлено влиянием инфекционно-воспалительных заболеваний на репродуктивную функцию, развитием акушерских и неонатальных осложнений. В то же время при появлении жалоб на вагинальный дискомфорт, зуд, жжение, патологические выделения с целью комплексной диагностики состояния микробиоты влагалища беременных и назначения этиотропной терапии может быть рекомендован тест Фемофлор® Скрин.

ЦЕЛЕСООБРАЗНО ЛИ ПРИМЕНЯТЬ ФЕМОФЛОР®16 И ФЕМОФЛОР® СКРИН ДЛЯ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ, БЕСПЛОДИЕМ И ДРУГИМИ РЕПРОДУКТИВНЫМИ ПРОБЛЕМАМИ?



Нарушение микробиоты влагалища и наличие возбудителей инфекций, передаваемых половым путем, ассоциировано с бесплодием и увеличивает риск выкидыша. Так, в ходе исследования, проведенного в ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (г. Санкт-Петербург), было показано, что нарушение микробиоты влагалища встречается чаще у беременных женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. Схожие данные были получены в работе, выполненной

в ФГБУ НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова (г. Москва): было установлено, что дисбиоз влагалища примерно в 2 раза увеличивает риск преждевременных родов.

С целью уточнения причины бесплодия, установления роли инфекционного фактора необходимо проведение комплексного исследования состояния микробиоты влагалища.

Клинические рекомендации «Женское бесплодие» МЗ РФ, 2021.

МОЖНО ЛИ НАЗНАЧАТЬ ФЕМОФЛОР® ЖЕНЩИНАМ, ПРИНИМАЮЩИМ МГТ? КАК ОЦЕНИВАТЬ РЕЗУЛЬТАТ?

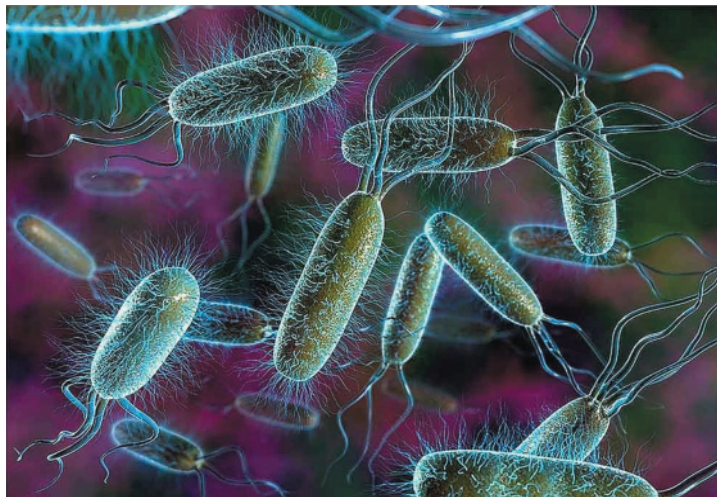
Да, на фоне приема препаратов, относящихся к МГТ, состав микробиоты влагалища женщин, находящихся в менопаузе и постменопаузе, существенно не отличается от показателей репродуктивного возраста. Оценка бланка результатов происходит стандартно с учетом ранее изложенных рекомендаций.

Подход к клинической интерпретации результатов исследований теста Фемофлор® у женщин, не принимающих МГТ, существенно отличается. В этих случаях рекомендуем обращать внимание на абсолютные значения показателей, индивидуальной нормой могут являться как случаи доминирования лактобактерий, так и облигатно-анаэробных бактерий.

22

ПОЧЕМУ В ТЕСТЕ ФЕМОФЛОР® НЕТ E. COLI?

Этот микроорганизм есть, *Escherichia coli* определяется в составе семейства *Enterobacteriaceae* одновременно с другими родственными бактериями.



ВСЕГДА ЛИ В СОСТАВЕ МИКРОБИОТЫ ЖЕНЩИН С ПОДТВЕРЖДЕННЫМ ДИАГНОЗОМ «АЭРОБНЫЙ ВАГИНИТ» ДОМИНИРУЮТ АЭРОБЫ? МОГУТ ЛИ БЫТЬ ИСКЛЮЧЕНИЯ?

Неожиданный ответ на данный вопрос был получен в исследовании, проведенном в 2019 году на базе ФГБОУВО «УГМУ» (г. Екатеринбург): у пациенток ($n = 333$), микроскопическая картина вагинального отделяемого которых соответствовала по классификации Дондерса критериям аэробного вагинита, *аэробный* дисбиоз, по данным теста Фемофлор®, был выявлен только у 9%. В большинстве случаев установлен дисбиоз различной степени выраженности с преобладанием облигатно-анаэробных микроорганизмов. В этих случаях необходимо полное микроскопическое исследование с оценкой микробиоценоза влагалища, а не только исследование по Дондерсу или Ньюдженту.

Именно при подозрении на АВ важно определять количество эпителия, соотношение лейкоцитов и эпителиальных клеток, фагоцитоз, лактобациллы, «ключевые», ложноключевые клетки и др. микроскопические параметры.



203-2 2023.09.18



КОНТАКТЫ ОФИСА:

ООО «ДНК-Технология». Адрес: г. Москва, Варшавское шоссе, д. 125ж, корп. 6, эт. 5, комн. 14.
Тел./факс: +7 495 640-17-71; www.dna-technology.ru; mail@dna-technology.ru.

СЛУЖБА КЛИЕНТСКОЙ ПОДДЕРЖКИ:

8 800 200-75-15 (звонок по России бесплатный), hotline@dna-technology.ru.