

Коршунов М. Н.
Болдырева М. Н.
Галкина И. С.

Исследование Андрофлор®

Ответы на вопросы
практикующих
специалистов

Москва, 2019



СОДЕРЖАНИЕ

1. На чем основан принцип теста Андрофлор®?	4
2. Соответствует ли использование данного теста при обследовании пациента с урологической патологией зарубежным тенденциям?	5
3. Культуральное исследование биологических материалов является классическим видом диагностики. Для чего тогда нужен Андрофлор®?	6
4. Посев — это первая линия диагностики? Если лечение без эффекта, назначить Андрофлор®?	7
5. Чем может быть обусловлено различие результатов посева и Андрофлора®?	7
6. Может ли Андрофлор® заменить культуральное исследование?	8
7. В чем заключается разница между Андрофлором® и Андрофлором® Скрин?	8
8. Каковы средние сроки выполнения анализа?	9
9. Какие биоматериалы следует использовать для диагностики (при уретрите, цистите, простатите, лейкоцитоспермии)?	9
10. Диагностическая ценность при уретритах? Зачем платить больше, если обычная ПЦР — это быстро, эффективно и результативно?	10
11. Ценность теста при обследовании пары с рецидивирующими посткоитальными вагинитами и баланопоститами? Необходимо ли обследовать каждого партнера индивидуально или достаточно знать результаты одного из них для назначения лечения?	12
12. С учетом высокой чувствительности метода, есть ли риски гипердиагностики? И как их можно избежать путем предварительной подготовки пациента к сдаче биоматериала?	12

13. Как Андрофлор® может помочь при часто рецидивирующих и устойчивых к антибактериальной терапии инфекциях?	13
14. Есть ли необходимость в назначении Андрофлор® в качестве прегравидарной подготовки?	14
15. Портрет пациента, которому показан анализ Андрофлор®.	14
16. Как перевести цифры из Андрофлора® в понятные с точки зрения трактовки и привычные единицы бакпосева?	15
17. Почему в Андрофлоре® нет вирусов?	15



1. На чем основан принцип теста Андрофлор®?

Андрофлор® — это исследование, в основе которого лежит технология полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР РВ). Сущность ПЦР РВ состоит в обнаружении и количественном определении молекулы ДНК (вирусы, бактерии, простейшие, варианты генов человека, мутации в генах и т.д.) в любом биоматериале.

Принцип, положенный в основу теста Андрофлор®, — прицельная идентификация микробиома урогенитального тракта, включая классические инфекции, передающиеся половым путем и уропатогены. Анализ позволяет определить баланс бактериальной обсеменённости урогенитального тракта: нормальное состояние — небольшое количество нескольких видов бактерий-комменсалов, находящихся между собой в равновесных концентрациях. Ненормальное состояние — избыточное размножение групп условно-патогенных бактерий, сдвигающих равновесие в свою сторону вплоть до полного вытеснения всех других бактерий. При обследовании пациента с урологическими заболеваниями Андрофлор® позволяет верифицировать, какие микроорганизмы нарушили гармонию, равновесие, и кто из них является «главным нарушителем спокойствия/равновесия». Это позволяет выбрать специалисту этиотропную терапию.

2. Соответствует ли использование данного теста при обследовании пациента с урологической патологией зарубежным тенденциям?

Да, последние несколько лет в мире наблюдается тенденция к использованию высокотехнологичных методов идентификации микрофлоры различных биотопов организма человека. В зарубежной литературе появляется все больше сообщений о потенциальной пользе использования молекулярно-генетических тестов в диагностике инфекционно-воспалительных процессов мочеполовой системы. В качестве основного используется высокопроизводительное секвенирование молекул ДНК и РНК (*Next Generation Sequencing, NGS*) — больше подходящее для науки, не рутинное, вследствие сложности и дороговизны технологии.

Ведущие специалисты признают «слабые места» бактериологических методов исследования и связывают перспективы улучшения диагностики, соответственно, и лечения с применением методов анализа нуклеиновых кислот, которые позволяют выбрать противомикробный препарат против конкретных групп бактерий, вызвавших воспалительную реакцию. Особенно актуальной становится эта задача на фоне проблемы распространенности антибиотикорезистентных штаммов бактерий, появившихся в ответ на бессистемное применение антибиотиков широкого спектра действия. Однако, в настоящее время за рубежом в урологии молекулярно-биологические методы — это пока больше область научных исследований.

При разработке теста Андрофлор[®], которая продолжалась более 7 лет, компания «ДНК-Технология» также использовала метод секвенирования для создания прообраза теста с большим количеством определяемых показателей (их было более 50). После проведения научных исследований на различных выборках была проведена корректировка диагностического профиля и разработан алгоритм трактовки результата. Зарубежных аналогов у Андрофлора[®] пока нет, поэтому тестом активно интересуются в мире.

3. Культуральное исследование биологических материалов является классическим видом диагностики. Для чего тогда нужен Андрофлор®?

Культуральное исследование — это, действительно, классика и на сегодняшний день «золотой стандарт» диагностики. Но у бакпосева, как и у любого другого лабораторного метода, есть как сильные, так и слабые стороны. В культуральном исследовании «за бортом» остаются все микробы, которые не растут на традиционных питательных средах — вирусы, облигатно-анаэробные бактерии (гибнут в присутствии кислорода воздуха), уrogenитальные микоплазмы (требуют специальных питательных сред) и др. Следствием этого становятся ложноотрицательные результаты. Определить точные количества микроорганизмов и их соотношения в биотопе при микробиологическом посеве также невозможно, поскольку это — полуколичественный метод. При культивировании невозможно выделить этиологически значимую группу микроорганизмов в смеси бактерий, полученной из очага воспаления. В посеве будет больше тех бактерий, которые хорошо растут, а не тех, которые могут являться причиной воспаления, но при этом растут плохо из-за присущих им свойств.

Столь важная для клиницистов оценка антибиотикорезистентности проводится только для микроорганизмов, которые удалось культивировать. Поэтому разумно сочетать методы, нивелируя их ограничения, например, посев с Андрофлором®, который точно определяет количества всех микроорганизмов, входящих в тест, при помощи технологии ПЦР РВ.

4. Посев — это первая линия диагностики? Если лечение без эффекта, назначить Андрофлор®?

Культуральный метод остается стандартом диагностики для идентификации флоры, тем не менее не всегда позволяет определить возбудителя, что может быть обусловлено биологическими особенностями микроорганизмов или формированием биопленок. Кроме этого, исследование требует определенного периода ожидания получения результатов.

Андрофлор® целесообразно использовать в ситуациях, когда врач хочет составить «дорожную карту» — быстро и точно определить инфекционный фактор и назначить лечение. С учетом высокой чувствительности и специфичности Андрофлор® может выявить патоген в случаях получения отрицательных результатов посева. Это позволяет прицельно подобрать антибактериальную терапию, как при неэффективности эмпирической, так и при рецидивирующем течении воспалительного процесса. То есть, в зависимости от нозологической формы и клинического течения заболевания, возможна сочетанная диагностика с использованием бакпосева и Андрофлора®.

5. Чем может быть обусловлено различие результатов посева и Андрофлора®?

Периодические несовпадения результатов посева и Андрофлора® обусловлены принципиальными различиями двух технологий. Посев предполагает культивирование с дальнейшей идентификацией и оценкой антибиотикорезистентности всех микроорганизмов, которые «выросли». Результаты посева напрямую зависят от способности микроорганизмов к культивированию в условиях, предлагаемых для них конкретной баклабораторией.

Андрофлор® — прямое определение количественных соотношений микроорганизмов по фрагментам ДНК, попавших в пробирку при взятии биоматериала, независимо от функциональных свойств микроорганизмов.

Тем не менее, мы можем наблюдать соответствие результатов посева и ПЦР РВ, особенно при выявлении микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*.

6. Может ли Андрофлор® заменить культуральное исследование?

Ответ на данный вопрос определяется клинической задачей. Если цель — быстрое и комплексное обследование пациента с острой симптоматикой, то результат Андрофлора® в кратчайшие сроки даст врачу информацию об этиологии процесса и поможет с выбором антибиотика. В случаях хронической рецидивирующей инфекции, особенно при получении отрицательных результатов культурального теста, Андрофлор® может помочь идентифицировать микрофлору, что определит таргетную антимикробную терапию.

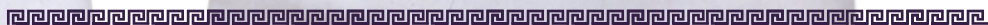
7. В чем заключается разница между Андрофлором® и Андрофлором® Скрин?

Разница между тестами в спектре определяемых микроорганизмов, а значит, в показаниях к назначению.

Андрофлор® Скрин — короткая тестовая линейка. Его рекомендуется назначать для диагностики острых форм заболеваний уrogenитального тракта. На исследование может быть направлен соскоб из уретры, головки полового члена, первая порция мочи или, в ряде случаев — эякулят.

Андрофлор® — широкая тестовая линейка. Показаниями являются острые и хронические формы воспалительных заболеваний полового тракта. Этот анализ целесообразно использовать в более сложных клинических случаях, в том числе для определения возможного влияния инфекций на фертильность, при подготовке к процедурам вспомогательных репродуктивных технологий. При мужском бесплодии целесообразно исследовать эякулят, при хронических воспалительных заболеваниях добавочных половых желез — секрет предстательной железы, хронических уретритах — соскоб из уретры.

Эти рекомендации носят общий характер, поскольку выбрать наиболее подходящий тест и оптимальный вид биоматериала может только лечащий врач.



8. Каковы средние сроки выполнения анализа?

Анализ с момента поступления биоматериала в лабораторию выполняется в течение 4-6 часов. Следует учитывать, что некоторое время расходуется на транспортировку образца, проверку качества исследования, редко — на повторное выполнение теста. Также важен фактор организации работы лаборатории. Поэтому средний срок выполнения анализа — 1-2 дня.

9. Какие биоматериалы следует использовать для диагностики (при уретрите, цистите, простатите, лейкоцитоспермии)?

Здесь важно помнить главное правило: ПЦР — прямой метод диагностики инфекций, поэтому при выборе биоматериала для исследования необходимо учитывать локализацию предполагаемого источника инфекции. При хроническом уретрите, баланопостите — соскоб из уретры, эпидидимите или простатите — эякулят или секрет предстательной железы.

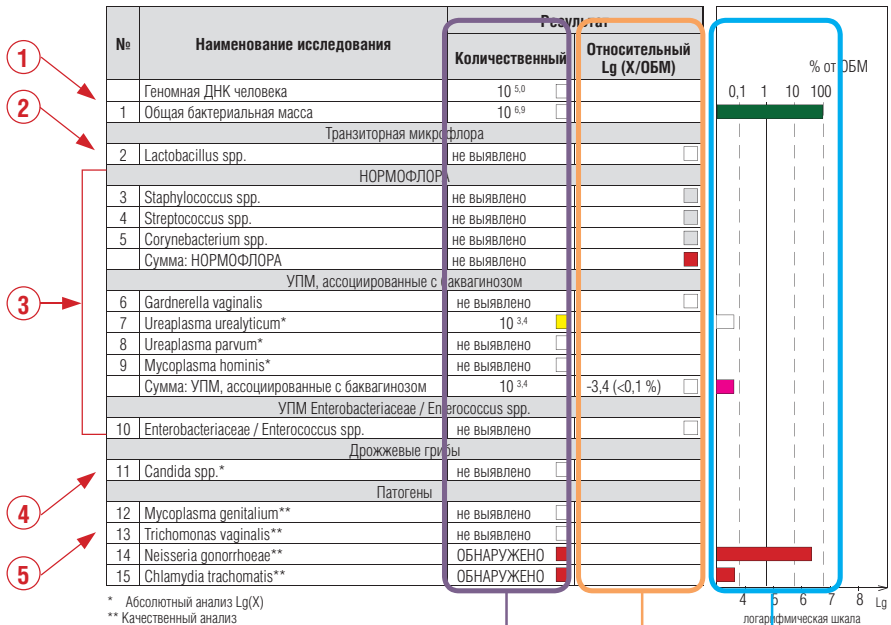
У пациентов с бессимптомной лейкоцитоспермией, патоспермией или с целью прегравидарной подготовки, а также перед процедурами вспомогательных репродуктивных технологий — целесообразно выполнять анализ эякулята.

Важно подчеркнуть, что такой биоматериал, как моча, не всегда подходит для диагностики инфекций уrogenитального тракта методом ПЦР РВ. Это связано с формированием биопленок. Моча не смывает биопленку, поэтому при отсутствии острого воспаления в данном биоматериале часто содержится недостаточное количество эпителиальных клеток и бактерий. Вследствие этого результат исследования может быть недостоверным. Другими словами, для тестов Андрофлор® мочу можно рассматривать в качестве сильно разведенного уретрального соскоба и при хронических процессах лучше выбрать другой вид биоматериала. При острых формах заболеваний и значительной бактериальной обсемененности, первая порция мочи (рекомендуется забирать минимально возможный объем в несколько мл) — удобный для сдачи пациентом и достаточный для исследования источник.

10. Диагностическая ценность при уретритах? Зачем платить больше, если обычная ПЦР — это быстро, эффективно и результативно?

ПЦР обычная или классическая (ее также называют «качественная» или ПЦР по конечной точке) определяет наличие или отсутствие ДНК микроорганизма, без его количественной характеристики. Сам факт обнаружения *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, достаточен для принятия решения о начале терапии. Однако, совсем нередко причиной уретрита являются условно-патогенные микроорганизмы, которые в норме могут в небольшом количестве присутствовать в мочеиспускательном канале, а при избыточном размножении — вызывать клинические симптомы уретрита. В этом случае необходима количественная оценка микроорганизмов с определением преобладающих групп бактерий. При острых уретритах достаточно использовать Андрофлор® Скрин, которое включает и качественное обнаружение ИППП, и количественную оценку условно-патогенных микроорганизмов.

Важной является экономическая составляющая обследования. Так, Андрофлор® Скрин стоит не дороже ПЦР-комплекса из 5-7 инфекций с ответом «есть/нет», но при этом включает в себя перечень основных микробных агентов, вызывающих специфический и неспецифический уретриты.



* Абсолютный анализ Lg(X)
 ** Качественный анализ

Заключение:

ОБНАРУЖЕНО: Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis. ДНК дрожжевых грибов Candida spp. не выявлена. Структура бактериального микробиома не соответствует норме: присутствуют патогенные микроорганизмы, нормофлора в незначительном количестве/отсутствует

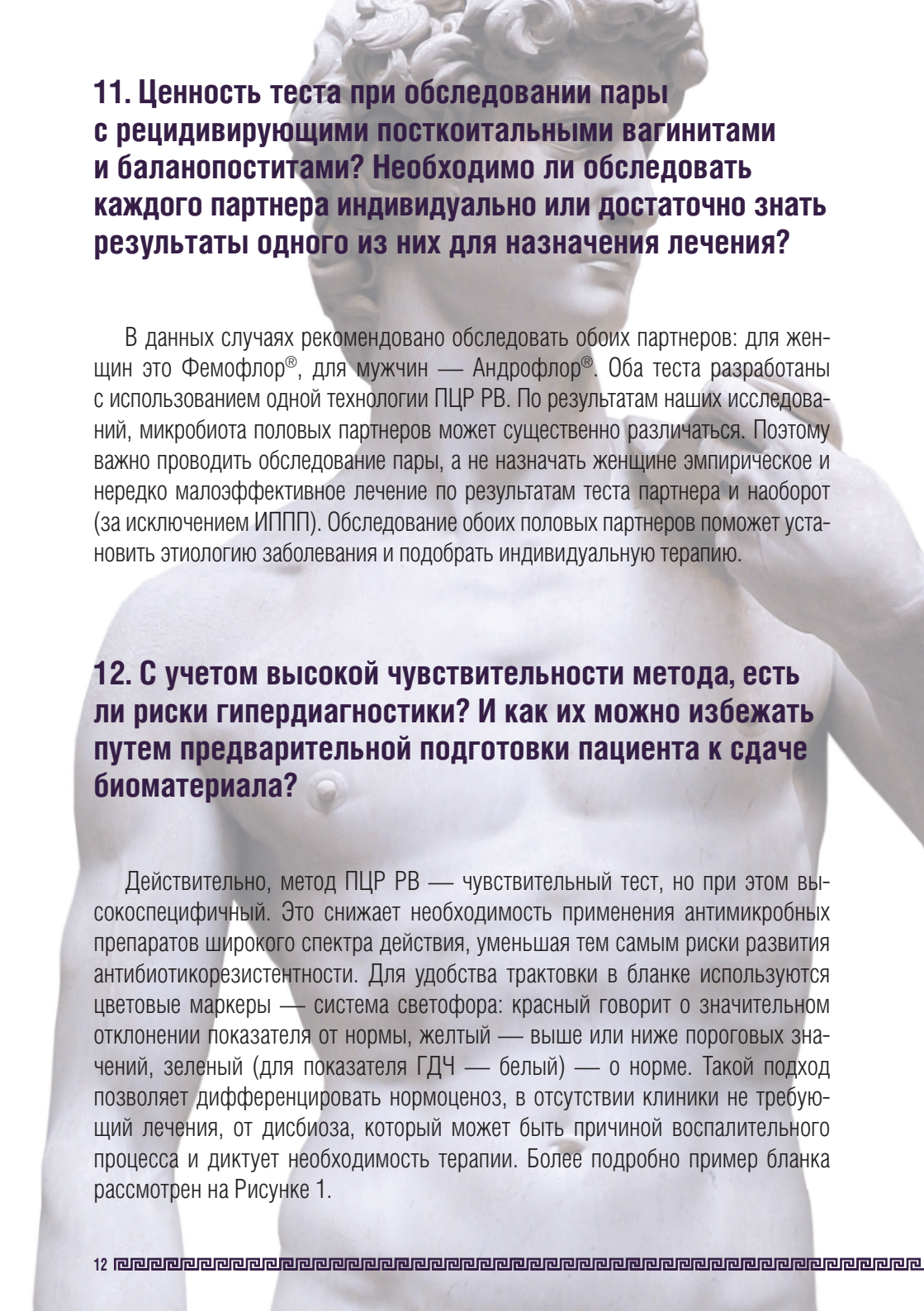
Абсолютные значения, оценка абс. значений

Относительные значения, оценка отн. значений

Графическое изображение показателей, окрашенные столбцы показателей, влияющих на заключение

- 1 Оценка биоматериала («био пленки»)
 - Количество клеток
 - Количество бактерий
- 2 Оценка транзиторной микрофлоры
 - Маркер примеси женской микрофлоры при хронических формах
- 3 Оценка структуры микрофлоры
 - Количество нормальной микрофлоры
 - Количество условно-патогенных микробов
- 4 Оценка грибов Candida
- 5 Оценка патогенов
- 6 Лабораторное заключение

Рис. 1. Образец выдачи результата исследования Андрофлор® Скрин.



11. Ценность теста при обследовании пары с рецидивирующими посткоитальными вагинитами и баланопоститами? Необходимо ли обследовать каждого партнера индивидуально или достаточно знать результаты одного из них для назначения лечения?

В данных случаях рекомендовано обследовать обоих партнеров: для женщин это Фемофлор[®], для мужчин — Андрофлор[®]. Оба теста разработаны с использованием одной технологии ПЦР РВ. По результатам наших исследований, микробиота половых партнеров может существенно различаться. Поэтому важно проводить обследование пары, а не назначать женщине эмпирическое и нередко малоэффективное лечение по результатам теста партнера и наоборот (за исключением ИППП). Обследование обоих половых партнеров поможет установить этиологию заболевания и подобрать индивидуальную терапию.

12. С учетом высокой чувствительности метода, есть ли риски гипердиагностики? И как их можно избежать путем предварительной подготовки пациента к сдаче биоматериала?

Действительно, метод ПЦР РВ — чувствительный тест, но при этом высокоспецифичный. Это снижает необходимость применения антимикробных препаратов широкого спектра действия, уменьшая тем самым риски развития антибиотикорезистентности. Для удобства трактовки в бланке используются цветовые маркеры — система светофора: красный говорит о значительном отклонении показателя от нормы, желтый — выше или ниже пороговых значений, зеленый (для показателя ГДЧ — белый) — о норме. Такой подход позволяет дифференцировать нормоценоз, в отсутствие клиники не требующий лечения, от дисбиоза, который может быть причиной воспалительного процесса и диктует необходимость терапии. Более подробно пример бланка рассмотрен на Рисунке 1.

Подготовка перед исследованием является важным моментом. Если для теста используются такие биоматериалы, как сок простаты или эякулят, во избежание избыточной контаминации мочеиспускательного канала мужчины влагалищной флорой партнерши, рекомендуют 3-х дневное половое воздержание, либо защищенные половые контакты на этот период времени. Перед сдачей анализа эякулята мужчина должен опорожнить мочевой пузырь, тщательно вымыть руки и выполнить туалет наружных половых органов, что минимизирует попадание сапрофитных микробов извне. При исследовании простатического содержимого пациенту также рекомендуется частично помочиться перед выполнением массажа предстательной железы. Данные простые мероприятия позволят получить более достоверную картину микробиома и свести к минимуму гипердиагностику.

13. Как Андрофлор® может помочь при часто рецидивирующих и устойчивых к антибактериальной терапии инфекциях?

В случаях получения отрицательных результатов бакпосева, сохранении клинико-лабораторных картины у пациента, несмотря на проводимое эмпирическое лечение, Андрофлор® позволяет осуществить точную диагностику. Важным моментом является идентификация облигатно-анаэробных условно-патогенных бактерий. Такой подход обеспечивает возможность применения направленной терапии без применения препаратов широкого спектра действия. В каждом случае нужно быть уверенным, что биоматериал получен корректно из очага предполагаемой инфекции.

14. Есть ли необходимость в назначении Андрофлор® в качестве прегравидарной подготовки?

В рамках прегравидарной программы в алгоритм обследования партнеров входит тест на скрытые инфекции, передающиеся половым путем. Андрофлор® позволяет исключить не только данные инфекционные агенты, но и дать информацию о состоянии микробного пейзажа эякулята. С учетом достаточно высокой распространенности инфекционно-воспалительных заболеваний полового тракта, имеющих стертое течение, своевременная идентификация патогенов и последующая санация является потенциально полезным инструментом в формате прекоцепционной подготовки.

15. Портрет пациента, которому показан анализ Андрофлор®.

Пациент, обратившийся к урологу с симптомами, указывающими на инфекционно-воспалительный процесс. Особенно в ситуациях, когда не удастся идентифицировать микробный агент классическим бактериологическим методом, клинико-лабораторных рецидивах после антибактериальной терапии, а также необходимости ускоренного скрининга с целью получения быстрого ответа, в том числе при остром уретрите или цистите.

16. Как перевести цифры из Андрофлора® в понятные с точки зрения трактовки и привычные единицы бакпосева?

Абсолютные значения титра микрофлоры приблизительно соответствуют результатам бакпосева, при условии правильной транспортировки биоматериала и соблюдении стандартов выполнения микробиологического и молекулярно-генетического исследований.

17. Почему в Андрофлоре® нет вирусов?

Это вопрос времени. В перспективе в Андрофлоре® будет включен тест на герпес-вирусную группу. В настоящее время есть возможность заказать дополнительное исследование на вирус-комплекс.



