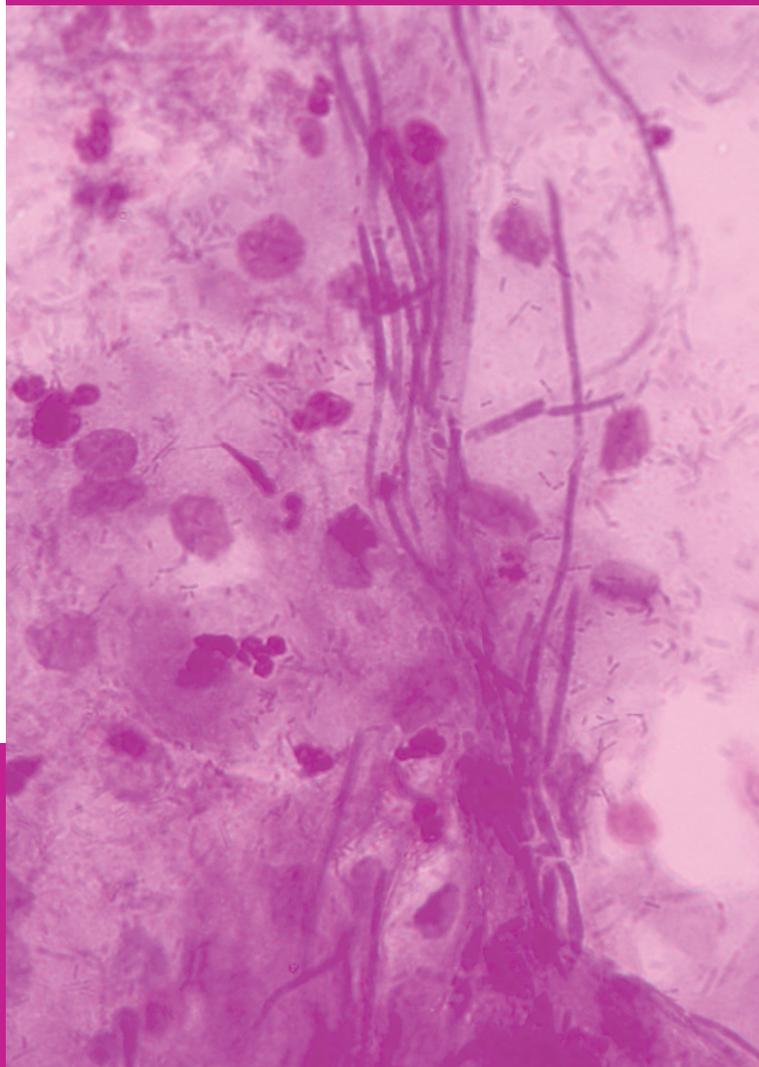


ФЕМОФЛОР®: КОРОТКО О ГЛАВНОМ

Ответы на основные
вопросы врачей
по диагностике
репродуктивно
значимых инфекций



www.dna-technology.ru

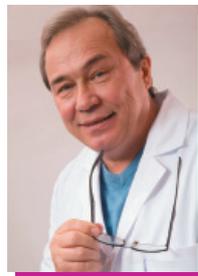
ОБ АВТОРАХ



**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**

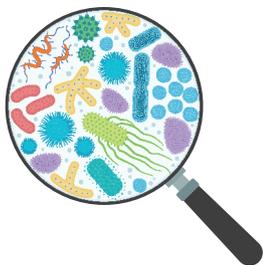
к.х.н., директор по маркетингу
компании «ДНК-Технология».

СОДЕРЖАНИЕ

1. Зачем в тесте так много микробов? Почему нельзя ограничиться традиционным скринингом на ИППП?
2. Почему именно ПЦР? В чем разница классической и реал-тайм ПЦР?
3. Зачем нужен Фемофлор®?
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 хитрости 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 совпадает результат посева и Фемофлора®?
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 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. Зачем нужно дорогостоящее обследование, если большинство современных комплексных препаратов действуют на «все»?
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 Фемофлоре® нет E.coli?
23. Всегда ли в составе микрофлоры женщин с подтвержденным диагнозом «аэробный вагинит» доминируют аэробы? Могут ли быть исключения?

01

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



По итогам международного проекта Vaginal Human Microbiome Project установлено, что у здоровых женщин в составе вагинального биотопа могут присутствовать более тысячи видов микроорганизмов – представителей нормальной и условно патогенной 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 микробиоценоза – результаты тестирования на патогены + определение соотношений нормальной и условно патогенной микрофлоры.

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®.

ПОЧЕМУ ИМЕННО ПЦР? В ЧЕМ РАЗНИЦА КЛАССИЧЕСКОЙ И РЕАЛ-ТАЙМ ПЦР?

ПЦР – самый чувствительный и специфичный метод, в его основе – идентификация и количественный учет фрагментов генома. Это инструментальная методика, поэтому риск некорректной, субъективной оценки результатов теста, связанный с квалификацией персонала, сведен к минимуму. Поскольку ПЦР не культивационная технология, жесткие требования к сохранению жизнеспособности микроорганизмов до поступления биоматериала в лабораторию и технические возможности баклаборатории по культивированию строгих анаэробных микроорганизмов в случае ПЦР неактуальны.

Классическая ПЦР (ПЦР по конечной точке, «качественная» ПЦР) позволяла получать результат только в формате «обнаружено/не обнаружено», что клинически значимо только для диагностики облигатных патогенов, их в составе микрофлоры урогенитального тракта в норме быть не должно. Для количественной оценки предназначена технология ПЦР в реальном времени, ее результаты позволяют установить, нарушен или нет баланс микрофлоры, а при дисбалансе – выявить доминирующую группу условно патогенных бактерий (рис. 1).

02

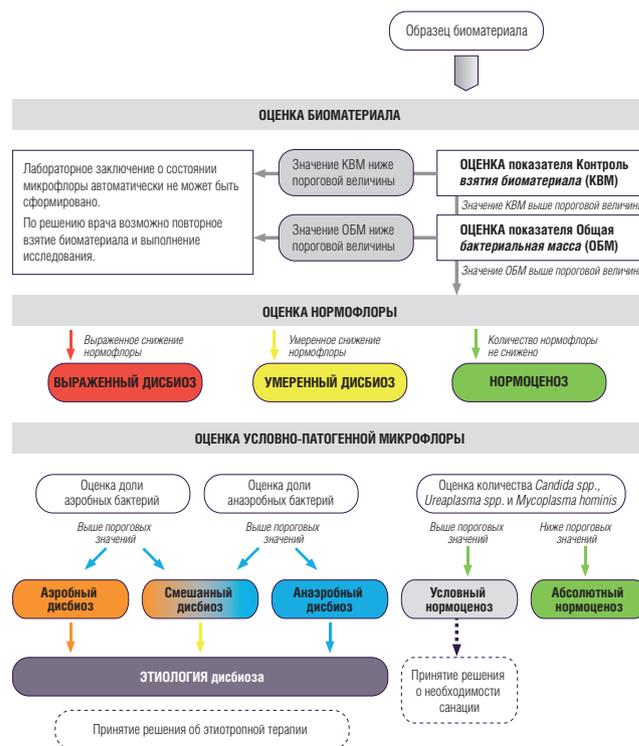


Рис. 1. Алгоритм интерпретации результатов исследования Фемофлор®

03

ЗАЧЕМ НУЖЕН ФЕМОФЛОР®?

Никто не призывает полностью заменить на Фемофлор® традиционные методы диагностики инфекций.

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

Микроскопия – быстрый, привычный и недорогой способ экспресс-оценки состава микрофлоры 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 – это не только лейкоциты и морфотип бактерий, это обязательно отношение лейкоцитов к эпителию, наличие или превалирование лактобацилл, наличие базальных/парабазальных клеток, «ключевых» клеток, их дифференцировка от ложно ключевых 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, Нуджента, 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 не только определить 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 46 странах мира для решения вопросов, связанных с точной диагностикой репродуктивно значимых инфекций.



**ФГБУ НМИЦ АГП
им. В.И. Кулакова**



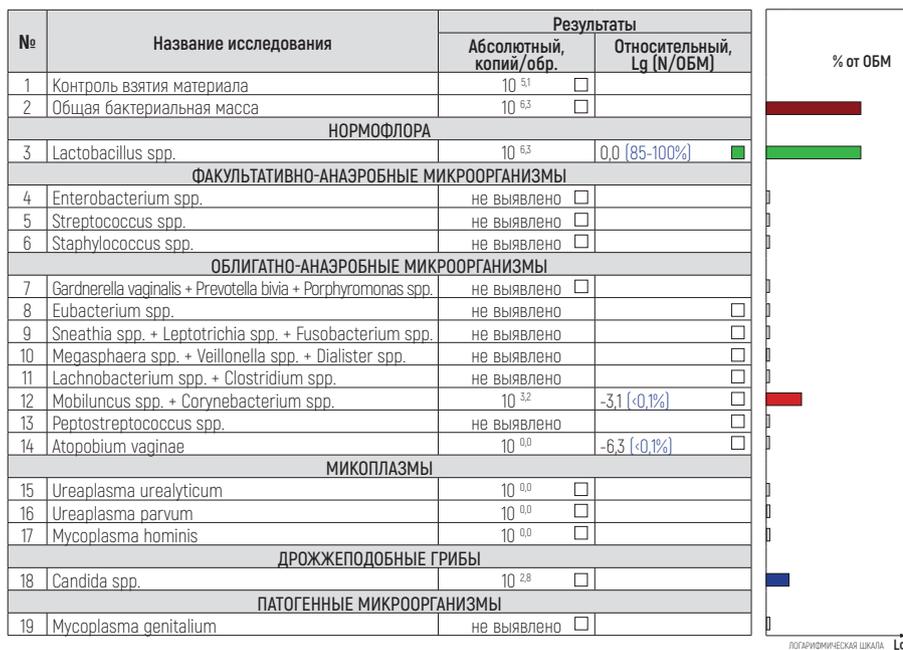


Рис. 2. Нормальное состояние микрофлоры влагалища условно здоровой женщины репродуктивного возраста



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

05

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 микрофлоры** (возбудители ИППП, нормофлора, 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 микрофлоры.** 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 (могут быть выполнены из той же пробирки с биоматериалом, что и Фемофлор®-16).

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

06

Любой по усмотрению врача, здесь все 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 С и V не рекомендуется, так как влагалище и цервикальный канал – это совершенно разные экологические ниши с разным эпителием и биохимическими параметрами внутренней среды. Следовательно, и видовой состав, и абсолютные количества компонентов микробиоты отличаются. Во влагалище действительно больше информации, и по составу его микрофлоры можно косвенно судить о составе микрофлоры в шейке матки, но никак не наоборот. Особую актуальность сейчас приобретают устройства, предназначенные для самостоятельного взятия биоматериала из влагалища в домашних условиях. В последствии материал направляется на в лабораторию на Фемофлор® Скрин, Фемофлор®-16 или Квант-21 (ВПЧ-тест).

В последнее время на исследование врачи часто направляют 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 микрофлоры влагалища женщин репродуктивного возраста.

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

ПРОТИВПОКАЗАНИЯ	КАК ПРАВИЛЬНО
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
Проведение пациенткой спринцевания	Не проводить туалет половых органов и спринцевание влагалища в день обследования
Использование пациенткой тампонов	Не использовать в день обследования
Пациентки после незащищенного полового контакта	Не вступать в незащищенный половой контакт за 48-72 часа до обследования
Пациентки после защищенного полового контакта	Воздержаться от защищенного полового контакта накануне обследования
Применение антибактериальных препаратов	Не ранее чем через 2 недели после применения антибактериальных препаратов
Применение пробиотиков и эубиотиков	Не ранее чем через 2 недели после применения препаратов, содержащих микроорганизмы

КАКИЕ ХИТРОСТИ ЕСТЬ ВО ВЗЯТИИ МАТЕРИАЛА НА ФЕМОФЛОР®?

Никаких специальных секретов по взятию клинического материала исследований 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 – рекомендация о повторном взятии биоматериала?

В исследовании Фемофлор® для снижения риска получения ложно-отрицательного и/или некорректного результата по причине ошибок взятия биологического материала предусмотрена количественная оценка показателя, называемого контроль взятия материала (КВМ). Трактовка значения КВМ позволяет ответить на вопрос: достаточно ли в представленном на исследование образце клеток эпителия с микробной биопленкой для получения достоверного результата теста?

Одиночные ПЦР-тесты на ИППП никак не контролируют преаналитику, а значит, корректность ответа. Основные практические рекомендации по преаналитическому этапу приведены в Приложении (табл. 1).

08

КАК ПРОЧИТАТЬ БЛАНК?

Если кратко, то суть исследования – деление общей бактериальной массы (ОБМ) на составляющие, установление соотношений (долей) нормофлоры и условно патогенных микроорганизмов. Прочитать бланк анализа можно за 2 секунды, для этого:

- 1) обратите внимание на цветовые маркеры около цифровых значений в таблице (желтый и красный маркеры показывают степень отклонения показателя от нормы) или на подкраску столбиков гистограммы (цветом выделены клинически значимые отклонения от нормы). Таблица и гистограмма – это 2 варианта представления результатов исследования, можно использовать один из них;
- 2) прочитайте заключение, в нем указан вариант микробиоценоза. В таблице реализована логика «светофора»: значения нормы – зеленый (лактобациллы)/прозрачный маркер (все другие показатели, кроме нормофлоры), отклонение от нормы – желтый, патологические значения – красный.

В гистограмме значение имеют длина и окраска столбика: низкие значения количества условно патогенных микроорганизмов, не пересекающие линию отсечки (1% от ОБМ соответствует норме), выглядят как короткие серые столбики. Высокие значения количеств УПМ выглядят как длинные столбики, окрашенные в цвет групп микроорганизмов (например, факультативно-анаэробные или облигатно-анаэробные микроорганизмы, микоплазмы, дрожжеподобные грибы). Более подробно о цветовой кодировке можно прочесть в легенде на 2-й странице «Описание бланков результатов исследования микрофлоры репродуктивного тракта женщин методом ПЦР в режиме реального времени Фемофлор®». Страница с легендой – настраиваемая в программе опция, пожалуйста, сообщите в лабораторию о желании получать 2-страничный ответ (рис. 4).

Рис. 4. Схема последовательности анализа бланка результата исследования Фемофлор®



- Контрольные показатели: КВМ (количество клеток эпителия с микробной пленкой) и ОБМ (общая бактериальная обсемененность).
- Относительные количества (доля) нормальной микрофлоры (лактобактерии) в ОБМ: выраженный дисбиоз , умеренный дисбиоз , нормоценоз .
- Относительные количества представителей факультативно-анаэробной микрофлоры (по способу культивирования часто называют аэробами, эти бактерии сохраняют жизнеспособность и в кислородных, и в бескислородных условиях): отклонение от нормы , повышенные количества , вариант нормы .
- Относительные количества (доли) представителей облигатно-анаэробной микрофлоры (их часто называют строгими анаэробами, так как молекулярный кислород приводит к гибели данных бактерий): отклонение от нормы , повышенные количества , вариант нормы .
- Условно-патогенные микоплазмы (интерпретация абсолютных количеств путем сравнения с величиной клинической значимости 104 ЦОЕ/мл): превышение пороговой величины , обнаружение в количестве до 104 ЦОЕ/мл , вариант нормы .
- Дрожжевые грибы *Candida* (интерпретация абсолютных количеств): превышение пороговой величины , обнаружение в количестве до 104 ГЭ/мл , вариант нормы .
- Качественный формат ответ по патогенному микроорганизму *Mycoplasma genitalium*: обнаружено , не выявлено .
- Заключение: тип микрофлоры, при нарушении контрольных показателей – рекомендации по преаналитике (повторному взятию биоматериала/повторению исследования).
- Гистограмма: альтернативный таблице вид представления результата исследования.

ОПИСАНИЕ БЛАНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Исследование 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 (*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 формате.

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 подкраска 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 данных случаях **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 микрофлорой при незащищенном половом контакте может служить триггером обострения**. Индивидуальная диагностика в этом случае может быть полезной для корректировки схем лечения каждого партнера, снижения риска наступления следующего случая рецидива заболевания.

ПОЧЕМУ НЕ СОВПАДАЕТ РЕЗУЛЬТАТ ПОСЕВА И ФЕМОФЛОРА®?

11

Несовпадения результатов обусловлены принципиальными различиями двух технологий, что наиболее ярко проявляется при доминировании в составе микрофлоры 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 анаэроостатов, CO₂-инкубаторов и другой аппаратуры для создания анаэробных условий культивирования бактерий). Существуют трудно культивируемые микроорганизмы, такие как хламидии, микопlasма гениталиум, вирусы, 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, изложенные выше.

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

Совпадение бакпосева и теста Фемофлор® продемонстрировано по хорошо культивируемым микроорганизмам (аэробам и факультативным анаэробам), микопlasмам (в стандартном посеве они определяются, требуется взятие материала в специальную транспортную среду и отдельное микробиологическое исследование на условно патогенные микопlasмы), дрожжеподобным грибам рода *Candida*.

12

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 Амсея затруднена, например невозможно проведение микроскопического исследования нативного (влажного) препарата, аминного теста, рН-метрии. Также сложности могут возникнуть при использовании критериев Нуджента 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), доказали, 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.

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

Да, 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 микрофлоры у пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями, 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 + ВПЧ из одной пробирки с биоматериалом, полученным из влагалища и цервикального канала. На практике некоторые лаборатории просят забирать биоматериал для выполнения теста Фемофлор®-16 и/или одиночные ПЦР-тесты в отдельные пробирки, поэтому целесообразно уточнить вопросы преаналитики перед назначением исследований.

14

ПОЧЕМУ Я ПОЛУЧАЮ ОТВЕТ НЕ В ВИДЕ ТАБЛИЦЫ 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 получить 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 быстроты 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 и качество эпителия, соотношение лейкоцитов и эпителиальных клеток, фагоцитоз, лактобациллы, «ключевые», ложно ключевые клетки и др. параметры. Это особенно важно, если при исследовании Фемофлор® был выявлен умеренный дисбиоз. Это справедливо в случаях, если лаборатория владеет такими методами микроскопии. Если же микроскопическое заключение делается только по наличию абсолютных количеств лейкоцитов в вагинальном биотопе и определении морфотипов бактерий, то такое микроскопическое исследование лучше не проводить вообще. Тогда уж лучше выполнить исследование только тестом Фемофлор®, чтобы не вводить в заблуждение лечащего врача.

Важно отметить, что назначение бактериологического исследования у пациенток 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 хорошее, 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 микрофлоры 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?

Само исследование занимает 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

ЗАЧЕМ НУЖНО ДОРОГОСТОЯЩЕЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ, ЕСЛИ БОЛЬШИНСТВО СОВРЕМЕННЫХ КОМПЛЕКСНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЕЙСТВУЮТ НА «ВСЕ»?

Главный критерий, который нужно использовать: **есть диагноз – есть лечение**. Поэтому на первом месте стоит именно диагностика, а потом терапия. Эмпирический принцип выбора препаратов неприемлем.

Нельзя лечить пациентку только на основании жалоб и клинических симптомов. Жалобы могут быть субъективны. **При наличии жалоб на выделения из влагалища только у 30% женщин может быть заболевание, а у 70% – это физиологическое состояние**. Поэтому диагностика с использованием высокочувствительных методов, таких как Фемофлор®, очень важна.

Принцип действия препарата на «все» можно сравнить с «ковровым бомбометанием», **после которого могут погибнуть не только те микроорганизмы, которых было нужно «обезвредить», но и полезные лактобациллы**. Во что в дальнейшем трансформируется микробиом, удастся ли добиться устойчивого восстановления нормоценоза и тем самым минимизировать риск рецидива? Ответ в каждом случае индивидуальный.

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



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 микрофлоры 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 микрофлоры влагалища беременных и назначения этиотропной терапии может быть рекомендован тест Фемофлор® Скрин.

20

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



Наличие возбудителей инфекций, передаваемых половым путем, ассоциировано с бесплодием и увеличивает риск самопроизвольного выкидыша в программах ВРТ, что позволяет рекомендовать для тестирования Фемофлор® Скрин.

Нарушение микрофлоры влагалища ассоциировано с бесплодием и увеличивает риск самопроизвольного выкидыша. С целью уточнения причины бесплодия, установления роли инфекционного фактора возможно направлять пациентку на комплексное исследование состояния микрофлоры (*проект клинических рекомендаций «Женское бесплодие»*).

В ходе исследования, проведенного в ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (г. Санкт-Петербург), показано, что нарушение микрофлоры влагалища встречается чаще у беременных женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. В связи с этим необходимо изменение схем диагностики для коррекции и профилактики репродуктивно значимых инфекций.

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

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

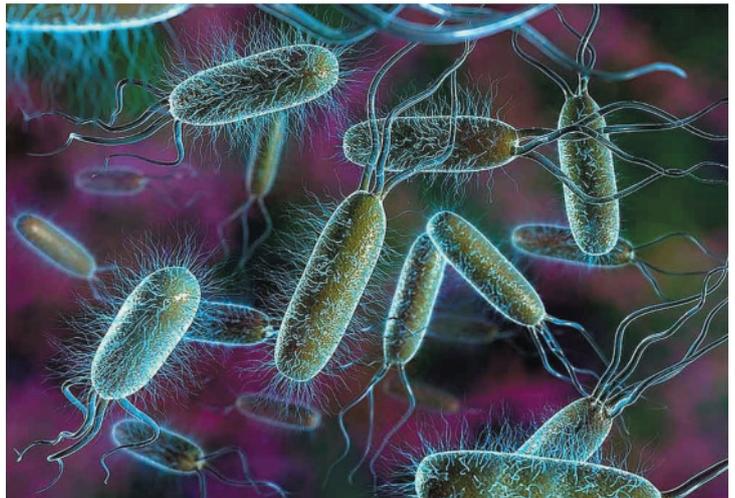
Да, на фоне приема препаратов, относящихся к МГТ, состав микрофлоры влагалища женщин, находящихся в менопаузе и постменопаузе, существенно не отличается от показателей репродуктивного возраста. Оценка бланка происходит стандартно, с учетом ранее изложенных рекомендаций.

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 лактофлоры, так и облигатно-анаэробных бактерий.

22

ПОЧЕМУ В ФЕМОФЛОРЕ® НЕТ E. COLI?

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



ВСЕГДА ЛИ В СОСТАВЕ МИКРОФЛОРЫ 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 G. Donders 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 по Нудженту.

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



203-1 2020.04.28

Версия 203-1



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.