



Липова Е. В., Чекмарев А. С., Болдырева М. Н.

**НОВЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ
ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
НИЖНИХ ОТДЕЛОВ МОЧЕПОЛОВОГО ТРАКТА МУЖЧИН**

(тест «Андрофлор®», «Андрофлор®Скрин»)

ВЫПИСКА

из протокола № 7-2 заседания секции Ученого совета
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России
по биомедицинским и клиническим технологиям

от 31 июля 2017 г.

СЛУШАЛИ: Заведующую кафедрой дерматовенерологии и косметологии с курсом клинической лабораторной диагностики ИППО ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России д.м.н., проф. Е.В. Липову, которая представила проект учебного пособия «Новый метод диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний нижних отделов мочеполового тракта мужчин (тест Андрофлор, Андрофлор скрин)». Положительные рецензии на учебное пособие получены от д.м.н., профессора М.Р. Рахматулиной и от в.н.с. ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России д.м.н., профессора В.А. Божедомова.

ПОСТАНОВИЛИ: Одобрить проект учебного пособия «Новый метод диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний нижних отделов мочеполового тракта мужчин (тест Андрофлор, Андрофлор скрин)» и рекомендовать его к публикации.

Председатель

Самойлов А.С.

Секретарь

Голобородько Е.В.



Липова Е. В., Чекмарев А. С., Болдырева М. Н.

**НОВЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ
ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
НИЖНИХ ОТДЕЛОВ МОЧЕПОЛОВОГО
ТРАКТА МУЖЧИН**

(тест «Андрофлор®», «Андрофлор®Скрин»)

I. ВВЕДЕНИЕ

Инфекционно-воспалительные заболевания мочеполовой системы у мужчин являются одной из причин нарушения репродуктивной функции и снижения качества жизни, что имеет огромное социально-экономическое значение.

Повреждение тканей в ходе инфекционно-воспалительного процесса может происходить в результате прямого действия микроорганизмов и опосредованного, вследствие неадекватной воспалительной реакции в ответ на инфицирование патогенными микроорганизмами, значительными количествами условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) или размножение эндогенных УПМ.

Степень повреждения тканей репродуктивного тракта зависит от длительности и интенсивности воспаления: хроническое воспаление оказывает более продолжительное токсическое действие на ткани, может также приводить и к развитию аутоиммунных заболеваний при генетической предрасположенности к подобным иммунным реакциям.

Заболевания нижних отделов мочеполовой системы широко распространены у мужчин, особенно в возрасте половой активности. Баланит или баланопостит, занимают до 11 % мужской мочеполовой клиники, могут быть периодическими или постоянными [1]. Приблизительно в 60 % случаев баланит имеет инфекционную причину [2]. Причинами баланита/ баланопостита могут быть *Candida*, аэробные и анаэробные бактерии, *Gardnerella vaginalis*, часто в сочетании с анаэробными бактериями, вирусы, паразиты и другие возбудители инфекций, передаваемых половым путем (ИППП). Среди неинфекционных причин могут быть механическое воздействие [2], красный плоский лишай (*Lichen planus*), псориаз и контактный дерматит [3].

Уретрит является наиболее распространенным синдромом мочеполового тракта у мужчин. Хотя известны неинфекционные причины, большинство случаев уретрита связывают с инфекциями [4]. Самыми частыми причинами уретрита являются *Neisseria gonorrhoeae* (НГ) и *Chlamydia trachomatis* (ХТ). Однако в ряде случаев ни НГ, ни ХТ при уретрите не обнаруживают [4]. В таких случаях уретрит называют неспецифическим не-хламидийным не-гонококковым (НХНГУ). Развитие НХНГУ связывают с *Mycoplasma genitalium* (МГ), *Trichomonas vaginalis* (ТВ) и значительно реже – с вирусами простого герпеса (HSV) или аденовирусом [5]. В некоторых исследованиях ведущая роль в развитии симптомов уретрита отводилась *Ureaplasma urealyticum* [6–8], но в других – нет [8, 9]. Почти в 50 % случаев НГУ возбудитель не был установлен [5]. Кандидатами на участие в развитии НХНГУ у мужчин явля-

ются бактерии, вызывающие заболевания репродуктивного тракта у женщин [5, 6], а также другие группы анаэробных бактерий [8–10]. Облигатные анаэробы трудно получить живыми из инфицированных биотопов из-за серьезных требований отсутствия кислорода. Противоречивые данные относительно их роли в развитии воспалительных заболеваний МПС [8–10] могут быть связаны с тем, что анаэробы остаются незамеченными из-за указанных ограничений, от которых зависят и получение, и транспортировка, и культивирование анаэробных микроорганизмов.

В настоящее время некультуральные методы, такие как ПЦР с регистрацией результатов в режиме реального времени, позволяющие проводить количественную оценку микробиома, включая плохо- и некультивируемые облигатно-анаэробные микроорганизмы, являются, возможно, единственной альтернативой методам стандартной лабораторной диагностики.

Потребность в развитии отечественных современных лабораторных методов медицинской микробиологической диагностики подтверждается тем, что на заседании профильной комиссии по специальности «Клиническая лабораторная диагностика» 30 мая 2013 г. было принято решение о создании рабочей группы по медицинской микробиологии, задачей которой является в том числе определение стратегических направлений развития микробиологической диагностики, в рамках которых наряду с планами ликвидации значительного технологического отставания отечественной медицинской микробиологии от передового мирового уровня планируется использование высокочувствительных молекулярных технологий [11, 12].

II. ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ МЕТОДА

Показания:

- наличие жалоб и/ или клинических объективных симптомов воспаления нижних отделов мочеполовой системы у мужчин: выделения из уретры, нарушения мочеиспускания, чувство дискомфорта в уретре, покраснение, зуд, отек, сыпь на головке полового члена (ГПЧ), неприятный запах и т. д.;
- нарушение репродуктивной функции, подготовка к ЭКО;
- оценка эффективности проводимой терапии и результатов лечения.

Противопоказания отсутствуют.

III. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ МЕТОДА

- Бокс лабораторный с УФ-лампой для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР-бокс) БЛ-ПЦР № РЗН 2015/3193 от 16 октября 2015 г., срок действия не ограничен.
Прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени амплификатор детектирующий «ДТпрайм» (по ТУ 9443-004-96301278-2010, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, рег. уд. № ФСР 2011/10229 от 03 марта 2011 года, срок действия не ограничен, ООО «НПО ДНК-Технология»), или амплификатор детектирующий ДТ-96 (по ТУ 9443-002-96301278-2007, № ФСР 2007/ 01250 от 04 мая 2010 года, срок действия не ограничен, ООО «НПО ДНК-Технология, Россия), или амплификатор детектирующий «ДТлайт» (по ТУ 9443-003-96301278-2010, № ФСР 2011/10228 от 03 марта 2011 года, срок действия не ограничен, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с программным обеспечением и ini-файлом с параметрами анализа «Андрофлор».
- Холодильник бытовой с морозильной камерой.
- Микроцентрифуга-вортекс MICROSPIN FV-2400 (BioSan, Латвия).
- Штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл.
- Дозатор переменного объема со сменными наконечниками, позволяющими отбирать объемы жидкости 2,0-20 мкл, 10-100 мкл.

- Наконечники для дозатора вместимостью 1,0-200 мкл, 100-1000 мкл.
- Наконечники для дозатора, вместимостью 1,0-200 мкл, 100-1000 мкл.
- Перчатки одноразовые без талька.
- Емкость с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов.
- Комплект для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС (№ ФСР 2010/08867, ООО «НПО ДНК-Технология, Москва, Россия, от 21 сентября 2010 г., срок действия не ограничен) или комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-46482062-2009 в форме комплектации ПРОБА-ГС-ПЛЮС (№ ФСР 2010/08696, ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия, от 19 августа 2010 г., срок действия не ограничен).
- Набор реагентов для исследования микрофлоры урогенитального тракта мужчин методом ПЦР в режиме реального времени «Андрофлор®», «Андрофлор®Скрин» (№ РЗН 2016/ 4490 ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия от 25 июля 2016 г., срок действия не ограничен).

IV. ОПИСАНИЕ МЕТОДА

«Андрофлор®» и «Андрофлор®Скрин» предназначены для установления этиологии инфекционно-воспалительных процессов нижнего отдела мочеполового тракта мужчин при следующих нозологиях (МКБ10):

N34.1	Неспецифический уретрит
N34.2	Другие уретриты
N34.3	Уретральный синдром неуточненный
N48.1	Баланопостит
N48.6	Баланит

Учитывая, что причиной перечисленных заболеваний могут быть как облигатные патогены – возбудители ИППП, так и условно-патогенные микроорганизмы – дрожжевые грибы рода *Candida*, простейшие и другие, действующие стандарты медико-санитарной и специализированной помощи, утвержденные Министерством здравоохранения России 29.12.2012 г., предусматривают использование нескольких видов микробиологических исследований для этиологической диагностики инфекционно-воспалительных процессов (табл. 1).

Таблица 1. Методы лабораторной диагностики инфекционно-воспалительных процессов нижнего отдела мочеполового тракта мужчин, рекомендованные стандартами медико-санитарной и специализированной помощи (утверждены Министерством здравоохранения России 29.12.2012 г.)

№ п/п	Код исследования	Содержание исследования	Заблевание	Код по МКБ10	№ Приказа МЗ РФ
1	A26.21.006	Бактериологическое исследование отделяемого секрета простаты на аэробные и факультативно-анаэробные условно-патогенные микроорганизмы	Неспецифический уретрит	N34.1	1675н
			Другие уретриты	N34.2	
			Уретральный синдром неуточненный	N34.3	1751н
2	A26.21.004	Микробиологическое исследование отделяемого из уретры на микоплазмы (<i>Mycoplasma genitalium</i>) и уреоплазму (<i>Ureaplasma urealyticum</i>)	Неспецифический уретрит	N34.1	1675н
			Другие уретриты	N34.2	
			Уретральный синдром неуточненный	N34.3	1751н
3	A26.21.007	Молекулярно-биологическое исследование отделяемого из уретры на хламидии (<i>Chlamidia trachomatis</i>)	Неспецифический уретрит	N34.1	1675н
			Другие уретриты	N34.2	
			Уретральный синдром неуточненный	N34.3	1751н
			Баланопостит	N48.1	1684н
			Баланит	N48.6	

№ п/п	Код исследования	Содержание исследования	Заболевание	Код по МКБ10	№ Приказа МЗ РФ
4	A26.21.001	Микроскопическое исследование отделяемого из уретры на гонококк (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>)	Неспецифический уретрит	N34.1	1675н
			Другие уретриты	N34.2	
			Уретральный синдром неуточненный	N34.3	1751н
5	A26.21.005	Микроскопическое исследование отделяемого из уретры на гарднереллы (<i>Gardnerella vaginalis</i>)	Баланопостит	N48.1	1684н
			Баланит	N48.6	
			Неспецифический уретрит	N34.1	1675н
			Другие уретриты	N34.2	
			Уретральный синдром неуточненный	N34.3	1751н
			Баланопостит	N48.1	1684н
Баланит	N48.6				
6	A26.21.012	Паразитологическое исследование секрета простаты на трофоциты трихомонад (<i>Trichomonas vaginalis</i>)	Неспецифический уретрит	N34.1	1675н
			Другие уретриты	N34.2	
			Уретральный синдром неуточненный	N34.3	1751н
7	A26.21.014	Микологическое исследование отделяемого из уретры на грибы рода кандида (<i>Candida spp.</i>)	Баланопостит	N48.1	1684н
			Баланит	N48.6	
			Уретральный синдром неуточненный	N34.3	1751н

Перечисленный выше список рекомендованных лабораторных диагностических тестов включает как методы, направленные на выделение и идентификацию микроорганизмов до вида (*Neisseria gonorrhoeae* (A26.21.001), *Trichomonas vaginalis* (A26.21.012) и другие), так и методы, позволяющие определить родовую принадлежность микроорганизмов (A26.21.006, A26.28.003) без указания вида.

До недавнего времени все данные о возможных инфекционных возбудителях заболеваний мочеполовой системы у мужчин были получены с помощью культуральных исследований, которые до настоящего времени продолжают оставаться золотым стандартом диагностики инфекционно-воспалительных процессов. Однако в последние годы в результате активного внедрения в практическую медицину молекулярно-биологических методов исследования спектр микроорганизмов, возможных этиологически значимых участников патологических процессов в урогенитальном тракте, был значительно расширен за счет открытия новых труднокультивируемых или неподдающихся культивированию микроорганизмов, которые ранее были неизвестны.

В соответствии с современными представлениями возбудителями заболеваний мочеполовой системы (МПС) у мужчин могут быть как безусловные патогены, такие как *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, так и условно-патогенные микроорганизмы (УПМ), которые в норме могут присутствовать в мочеполовых путях в количествах, не превышающих значение допустимой нормы. Именно поэтому для установления этиологической роли тех или иных условно-патогенных микроорганизмов в развитии заболеваний МПС требуется их количественная характеристика.

При установлении этиологической роли УПМ в развитии заболеваний мочеполовой системы у мужчин необходимо учитывать, что в ее нижних отделах (дистальный отдел уретры, головка полового члена, венечная борозда) в норме могут обнаруживаться такие микроорганизмы, как *Staphylococci spp.*, *Streptococci spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, попадающие туда с кожи или во время полового контакта [13, 14].

Количество условно-патогенной биоты можно установить с помощью культуральных и некультуральных молекулярно-биологических методов исследования. В практической медицине значительно чаще используются культуральные методы диагностики, имеющие ряд ограничений и требований к протоколу исследования.

УПМ не только широко распространены в окружающей среде, но они также могут контаминировать биопробу в момент взятия биоматериала, поэтому требуется строгое соблюдение правил получения и транспортировки клинического образца для исследования. Необходима максимально быстрая доставка биопробы

в лабораторию для того, чтобы сохранить количественные соотношения между микроорганизмами, обладающими разной степенью устойчивости во внешней среде. Например, аэробные и анаэробные микроорганизмы до посева на питательные среды. Следующим условием является обеспечение равных условий для роста разных микроорганизмов, например аэробных и анаэробных для сохранения исходных количественных соотношений между ними.

Время, необходимое для получения результата анализа, также имеет большое значение для принятия врачом решения о необходимости и объеме терапевтического вмешательства. Срок получения результата культурального исследования обычно составляет более семи дней, поэтому врачу приходится эмпирически принимать решение о назначении пациенту терапии, что, как правило, ведет к избыточному назначению лекарственных препаратов и, соответственно, увеличению риска нежелательных последствий.

В последние годы происходит бурное развитие некультуральных, молекулярно-биологических методов на основе анализа нуклеиновых кислот микроорганизмов. Одним из них является метод полимеразной цепной реакции с регистрацией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) – метод, обеспечивающий возможность количественной оценки любого необходимого спектра микроорганизмов в биологической пробе.

Метод был разработан в 1996 г. [15] вслед за «классической» ПЦР. Метод ПЦР-РВ обеспечивает высокую чувствительность и эквивалентную специфичность «классической» ПЦР, в то же время по сравнению с ней имеет ряд преимуществ. Поскольку амплификация и детекция происходят в одной и той же закрытой пробирке, риск попадания амплифицированных нуклеиновых кислот в окружающую среду незначителен. Автоматическая регистрация увеличения флуоресцентного сигнала в ходе положительной реакции обеспечивает возможность его количественной оценки. Результат реакции программное обеспечение прибора выдает сразу по окончании реакции.

Некультуральный метод ПЦР-РВ имеет ряд преимуществ перед культуральными микробиологическими методами. Так, это значительно менее жесткие требования к преаналитическому этапу для сохранения количественных соотношений между микроорганизмами (нуклеиновыми кислотами микроорганизмов), включая взятие материала и его доставку в лабораторию, значительно меньший риск влияния на результат исследования контаминации образцов микроорганизмами из внешней среды, равные условия по чувствительности и специфичности для всех микроорганизмов, в том числе некультивируемых и труднокультивируемых, которые предполагается идентифицировать. Одним из наиболее значительных преимуществ ПЦР-РВ является скорость получения результата (несколько часов).

Сравнение чувствительности ПЦР-РВ и культуральных методов в отношении относительно легко культивируемых аэробных бактерий показало 100 % чувствительность ПЦР-РВ [16]. При исследовании плевральной жидкости детей с параплевральным выпотом/эмпиемой возбудители воспалительного процесса были выявлены методом ПЦР-РВ в 82 % случаев, культуральным методом в 25 % [17]. Horváth Á. и соавт. (2013) в результате сравнения ПЦР-РВ и культуральных методов в отношении грибов, грамположительных и грамотрицательных бактерий пришли к заключению, что сделали заключение, что ПЦР-РВ является специфичной, но более быстрой по отношению к культуральным методам [18]. Сравнение культуральных методов и ПЦР-РВ показало 100 % конкордантность при диагностике таких клинически значимых бактерий, как *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* и *Pseudomonas aeruginosa* [19]. Было сделано заключение, что ПЦР-РВ является, точным, быстрым и экономически более эффективным лабораторным методом.

Комбинация высокой чувствительности и специфичности, низкий риск контаминации, скорость получения результата исследования (1–1,5 часа), возможность количественного анализа и идентификации некультивируемых микроорганизмов делают технологию ПЦР-РВ высоковостребованной для диагностики инфекционных болезней наряду с другими лабораторными методами исследования [20, 21].

Количественный анализ микроорганизмов с помощью ПЦР-РВ в настоящее время уже используется для изучения нормальной, патогенной и условно-патогенной микробиоты биоты в разных биотопах человека: периодонте [22], респираторном тракте [23], образцах из желудочно-кишечного тракта [24] и вагинального микробиома у женщин [25]. Подобный подход использован в тест-системе «Набор реагентов для исследования биоценоза урогенитального тракта у женщин методом ПЦР в режиме реального времени «ФЕМОФЛОР» (регистрационное удостоверение № ФСР2009.04663) который применяется в лабораторной диагностике с 2009 г., его эффективность подтверждена научно-клиническими исследованиями и клинической практикой [26–28].

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* – набор реагентов для исследования микробиоты урогенитального тракта мужчин методом ПЦР в режиме реального времени по ТУ 9398-090-46482062-2015 «Андрофлор®», «Андрофлор® Скрин» (РУ № РЗН 2016/4490) предназначен для характеристики микробиоты урогенитального тракта мужчин путем анализа ДНК микроорганизмов методом ПЦР в режиме реального времени.

В зависимости от спектра выявляемых микроорганизмов набор может поставляться в следующих вариантах комплектации:

- «Андрофлор®»;
- «Андрофлор®Скрин».

Комплектация «Андрофлор®» предназначена для выявления ДНК патогенных микроорганизмов, количественной оценки грибов рода *Candida*, урогенитальной нормобиоты, широкого спектра УПМ с целью этиологической диагностики острых и хронических воспалительных заболеваний мочеполовой системы у мужчин.

Комплектация «Андрофлор®Скрин» является сокращенным вариантом комплектации «Андрофлор®» и предназначена для выявления ДНК патогенных микроорганизмов, количественной оценки грибов рода *Candida*, урогенитальной нормобиоты, ограниченного спектра УПМ, с целью этиологической диагностики острых воспалительных заболеваний мочеполовой системы у мужчин.

ПОЛУЧЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Общие требования

Для получения корректных результатов ПЦР-РВ большое значение имеет преаналитический этап: получение биоматериала, условия хранения образца и его транспортировки в лабораторию.

Исследование ДНК микроорганизмов методом ПЦР в режиме реального времени относится к прямым лабораторным тестам, поэтому биоматериал необходимо получать из локализаций, максимально близких к предполагаемому очагу инфекционного процесса.

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Соскоб (с головки полового члена, крайней плоти, препуциального мешка, уретры): рекомендуется использовать для выявления этиологии острых и хронических инфекционно-воспалительных процессов нижних отделов мочеполового тракта.

Моча (первая порция свободновыпущенной утренней мочи или мочи, взятой через три часа после последнего мочеиспускания): рекомендуется использовать при острых воспалительных процессах в связи с выраженной болезненностью введения уретральных зондов в уретру.

Техника получения клинических образцов для лабораторного исследования методом ПЦР-РВ

1. Соскоб из уретры

Соскоб выполняют стерильным одноразовым мужским уретральным зондом.

Перед взятием биоматериала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение не менее трех часов.

Непосредственно перед взятием биоматериала необходимо обработать наружное отверстие уретры сухим стерильным ватным тампоном для удаления свободных выделений.

При наличии обильных уретральных выделений клинический образец получают через 15–20 минут после мочеиспускания.

Уретральный зонд вводится в уретру на глубину 3–4 см, затем осторожными вращательными движениями продвигается к наружному отверстию уретры.

У детей материал для исследования берут только с губок уретры.

Уретральный зонд погружают в пробирку типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с транспортной средой для ПЦР-исследований. Тщательно споласкивают зонд в транспортной среде, избегая разбрызгивания жидкости, после чего вращательным движением отжимают зонд о стенку пробирки, не покрытую жидкостью.

Полностью удаляют уретральный зонд из пробирки. Пробирку плотно закрывают крышкой и маркируют.

2. Соскоб эпителия крайней плоти, головки полового члена и препуциального мешка

Перед взятием биоматериала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 3–4 часов.

Соскоб выполняют стерильным одноразовым мужским/женским уретральным зондом с поверхности крайней плоти, ГПЧ и препуциального мешка.

Уретральный зонд погружают в пробирку типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с транспортной средой для ПЦР-исследований.

3. Порядок взятия первой порции мочи

Поскольку первая порция мочи является аналогом соскоба эпителиальных клеток из уретры, первую порцию утренней мочи собирают в минимально возможном объеме (**несколько мл**) для увеличения концентрации микроорганизмов в пробе. Менее предпочтительно использовать для исследования первую порцию мочи, полученную через три и более часов после последнего мочеиспускания.

Отбор мочи проводят в специальную сухую стерильную емкость объемом до 60 мл, снабженную герметично закручивающейся крышкой.

После сбора мочи контейнер плотно закрывают и маркируют.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ДОСТАВКИ МАТЕРИАЛА

В сопроводительном документе-направлении необходимо указать: фамилию, имя, отчество, возраст пациента, вид материала, предполагаемый диагноз, показания к обследованию, дату и время взятия пробы, наименование учреждения (подразделения), направляющего клинический материал (Приказ МЗ СССР № 1030 от 04.10.1980).

Клинический материал доставляется в лабораторию лицами, прошедшими специальный инструктаж, при соблюдении правил транспортировки.

Если время хранения и транспортировки клинического материала от момента взятия до момента его доставки в лабораторию составляет не более суток, то пробирку с клиническим материалом необходимо хранить и доставлять в лабораторию при температуре бытового холодильника плюс 4–10 °С, не замораживая.

В случае невозможности доставки клинического образца в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание и хранение образца клинического материала при минус 20 °С до одного месяца.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Выделение нуклеиновых кислот из клинического материала и проведение реакции ПЦР в режиме реального времени проводятся в клиничко-диагностической лаборатории строго в соответствии с инструкцией производителя комплекта реагентов.

ТРАКТОВКА РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Трактовка результатов исследования осуществляется на основании результатов реакции ПЦР-РВ автоматически программным обеспечением приборов для ПЦР-РВ (производства «ДНК-Технологии») на основании алгоритма, разработанного производителем тест-системы (см. приложение). Расчет общей бактериальной обсемененности уретрального биотопа (общая бактериальная масса – ОБМ), а также абсолютных количеств микроорганизмов в геномных эквивалентах (ГЭ) проводится программным обеспечением (ПО) к прибору на основании математической формулы, учитывающей номер порогового цикла при проведении ПЦР в реальном

времени. Относительные количества микроорганизма/ группы микроорганизмов ПО рассчитывает в виде разницы абсолютных значений Lg10 микроорганизма/ группы микроорганизмов и ОБМ.

В процессе формирования заключения ПО анализирует и оценивает следующие показатели в зависимости от комплектации тест-системы в формате «Андрофлор®» или «Андрофлор®Скрин» (табл. 2).

Таблица 2. Показатели тест-системы «Андрофлор®» в зависимости от комплектации

ПОКАЗАТЕЛИ	Андрофлор® Скрин	Андрофлор®
Общая бактериальная масса (ОБМ)	√	√
Геномная ДНК человека (ГДЧ)	√	√
Транзиторная микрофлора: <i>Lactobacillus spp.</i>	√	√
Нормофлора		
<i>Staphylococcus spp.</i>	√	√
<i>Streptococcus spp.</i>	√	√
<i>Corynebacterium spp.</i>	√	√
Сумма: Нормофлора	√	√
УПМ, ассоциированные с бактериальным вагинозом (БВ)		
<i>Gardnerella vaginalis</i>	√	√
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	√	√
<i>Ureaplasma parvum</i>	√	√
<i>Mycoplasma hominis</i>	√	√
<i>Atopobium cluster</i>	–	√
<i>Megasphaera spp./ Veillonella spp./ Dialister spp.</i>	–	√
<i>Sneathia spp./ Leptotrichia spp./ Fusobacterium spp.</i>	–	√
Сумма: УПМ, ассоциированные с бактериальным вагинозом (БВ)	√	√
УПМ анаэробы		
<i>Bacteroides spp./ Porphyromonas spp./ Prevotella spp.</i>	–	√
<i>Anaerococcus spp.</i>	–	√

ПОКАЗАТЕЛИ	Андрофлор® Скрин	Андрофлор®
<i>Eubacterium spp.</i>	–	√
<i>Peptostreptococcus spp./ Parvimonas spp.</i>	–	√
Сумма: УПМ анаэробы	–	√
УПМ: <i>Pseudomonas aeruginosa/ Ralstonia spp./ Burkholderia spp.</i>	–	√
УПМ: <i>Haemophilus spp.</i>	–	√
УПМ: <i>Enterobacteriaceae spp./ Enterococcus spp.</i>	√	√
Дрожжеподобные грибы: <i>Candida spp.</i>	√	√
Патогены		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	√	√
<i>Chlamydia trachomatis</i>	√	√
<i>Mycoplasma genitalium</i>	√	√
<i>Trichomonas vaginalis</i>	√	√

Общая бактериальная масса (ОБМ) – бактериальная обсемененность биотопа – абсолютный показатель количества бактерий, с которым сравнивают все определяемые бактерии/группы бактерий, минимальное пороговое значение – 10^4 .

Геномная ДНК человека (ГДЧ) оценивается в абсолютных значениях, содержится в любых клетках человека, кроме эритроцитов, служит для подтверждения наличия в пробирке человеческого биоматериала. Минимальное пороговое значение – 10^3 .

В случае, если в образце биоматериала **одновременно ОБМ и ГДЧ ниже пороговых значений**, анализ микрофлоры не проводится. В этом случае рекомендуется повторить взятие биоматериала.

Транзиторная микрофлора: *Lactobacillus spp.* Относительный показатель, служит маркером наличия в половых путях транзитной микрофлоры, попадающей в половые пути от гетеросексуального полового партнера. При диагностике острых заболеваний нижних отделов МПС может служить косвенным маркером того, что причиной заболевания является транзитная микрофлора. При диагностике хронических заболеваний служит маркером качества подготовки пациента к проведению исследования. Пороговое значение – 10 % от ОБМ. При превышении порогового значения *Lactobacillus spp.* количественно-качественно-

ная оценка микрофлоры не проводится и заключение не выдается. В этом случае требуется повторное взятие биоматериала при условии защищенных половых контактов или отсутствия незащищенных половых контактов в течение трех дней.

Нормофлора: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Corynebacterium spp.* Сумма количества микроорганизмов нормофлоры – относительный показатель, снижение которого трактуется как дисбиоз.

Низкая общая бактериальная масса (ОБМ $<10^4$) биотопа при условии подтвержденного получения биоматериала от человека (ГДЧ $>10^3$) трактуется как НОРМОЦЕНОЗ. Если нормофлора составляет большую часть ОБМ, а относительное количество УПМ ниже пороговых значений, – структура микробиома оценивается как «НОРМОЦЕНОЗ».

Количество нормофлоры ниже пороговых значений оценивается как дисбиоз и степень дисбиоза зависит от уровня снижения нормофлоры. Степень дисбиоза рассчитывается при условии наличия ОБМ $>10^5$. При ОБМ $=10^4$ – 10^5 степень дисбиоза не оценивается из-за возможных математических погрешностей в связи с низкими значениями ОБМ. В этом случае любое снижение нормобиоты трактуется как дисбиоз без указания его степени.

Условно-патогенные микроорганизмы (УПМ). Показатель оценивается в относительных значениях. Относительное количество УПМ и/или группы УПМ выше пороговых значений свидетельствует об их участии в развитии дисбиоза. Сравнение относительных количеств отдельных УПМ и групп УПМ между собой обеспечивает возможность определения этиологии дисбиоза. Если среди разных групп УПМ преобладает какая-то одна, в лабораторном заключении эта группа УПМ указывается как ПРЕОБЛАДАЮЩАЯ. Если преобладающей группы УПМ нет, дисбиоз трактуется как СМЕШАННЫЙ.

Если снижение относительного количества нормофлоры не сопровождается увеличением исследованных УПМ, то результат трактуется как ДИСБИОЗ НЕЯСНОЙ ЭТИОЛОГИИ.

Дрожжеподобные грибы: *Candida spp.* Показатель оценивается в абсолютных значениях, клинически значимое пороговое значение – 10^4 .

Патогены: *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*. Качественный показатель, оценивается наличие или отсутствие микроорганизма.

ОПИСАНИЕ БЛАНКА РЕЗУЛЬТАТА

Структура бланка результата исследования «Андрофлор®» на примере конкретного пациента показана на рис. 1. Результаты представлены в виде таблицы, состоящей из трех колонок и столбчатой диаграммы.

В левой колонке таблицы перечислены исследуемые показатели.

В средней колонке (выделено цветной линией) абсолютные значения показателей в виде 10^n и окрашенные или неокрашенные квадратики соответствуют показателям, которые оценивают в абсолютных значениях.

В правой колонке таблицы (выделено цветной линией) – относительные значения показателей в двух вариантах представления информации: в виде разницы $Lg10$ (степеней 10) показателя и ОБМ и в скобках – доля (%) показателя от ОБМ. Математически более корректным является значение разницы $Lg10$, более привычным – % от ОБМ. Окрашенные или неокрашенные квадратики соответствуют показателям, которые оценивают в относительных значениях.

Справа от таблицы приведена гистограмма (выделено цветной линией) всех количественных показателей. Цветом выделены столбики, соответствующие показателям, влияющим на формирование итогового заключения. Вверху диаграммы на линиях сетки указаны % от ОБМ, внизу – значения $Lg10$.

Окраска оценочных квадратиков в таблице означает следующее:

Контрольные показатели

(геномная ДНК человека, общая бактериальная масса, *Lactobacillus spp.*):

соответствие критериям,

несоответствие критериям.

Нормофлора:

соответствие критериям нормы,

умеренное отклонение от критериев нормы,

выраженное отклонение от критериев нормы.

УПМ и дрожжеподобные грибы:

соответствие критериям нормы,

умеренное отклонение от критериев нормы,

выраженное отклонение от критериев нормы.

Патогены:

не выявлено,

обнаружено.

№	Наименование исследования	Результат		% от ОБМ
		Количественный	Относительный Lg (X/ОБМ)	
	Геномная ДНК человека	10 ^{4,7}	<input type="checkbox"/>	
1	Общая бактериальная масса	10 ^{5,7}	<input type="checkbox"/>	
Транзиторная микрофлора				
2	Lactobacillus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
НОРМОФЛОРА				
3	Staphylococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
4	Streptococcus spp.	10 ^{4,9}	-0,7 (16-21 %)	
5	Corynebacterium spp.	10 ^{4,2}	-1,5 (3-4 %)	
	Сумма: НОРМОФЛОРА	10 ^{5,0}	-0,7 (19-25 %)	
УПМ, ассоциированные с баквагинозом				
6	Gardnerella vaginalis	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
7	Megasphaera spp. / Veillonella spp. / Dialister spp.	10 ^{6,6}	-1,1 (7-10 %)	
8	Sneathia spp. / Leptotrichia spp. / Fusobacterium spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
9	Ureaplasma urealyticum*	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
10	Ureaplasma parvum*	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
11	Mycoplasma hominis*	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
12	Atopobium cluster	10 ^{4,3}	-1,4 (4-5 %)	
	Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом	10 ^{4,6}	-0,9 (11-15 %)	
УПМ анаэробы				
13	Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.	10 ^{5,0}	-0,1 (63-85 %)	
14	Anaerococcus spp.	10 ^{4,9}	-0,5 (13-18 %)	
15	Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.	10 ^{5,2}	-0,4 (31-42 %)	
16	Eubacterium spp.	10 ^{5,3}	-0,4 (34-45 %)	
	Сумма: УПМ анаэробы	10 ^{5,3}	0,2 (85-100 %)	
УПМ Haemophilus spp.				
17	Haemophilus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
УПМ Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.				
18	Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
УПМ Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.				
19	Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
Дрожжеподобные грибы				
20	Candida spp.*	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
Дрожжеподобные грибы				
21	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
22	Trichomonas vaginalis**	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
23	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	<input type="checkbox"/>	
24	Chlamydia trachomatis**	не выявлено	<input type="checkbox"/>	

* Абсолютный анализ Lg(X)
 ** Качественный анализ

Заключение:
 Дисбиоз ВЫРАЖЕННЫЙ

Абсолютные значения,
оценка абс. значений

Относительные значения,
оценка отн. значений

Графическое изображение показателей, окрашены столбцы показателей, влияющих на заключение

Рис. 1. Структура бланка результатов исследования «Андрофлор®», сформированная автоматически ПО приборов производства компании «ДНК-Технология»

Для более детального описания структуры бланк результата был разделен на четыре части (рис. 2–5).

На рис. 2 представлена 1-я часть бланка результатов со следующими показателями:

«Геномная ДНК человека» (ГДЧ) – контрольный абсолютный показатель, где значение $10^{4.7}$ соответствует критериям нормы. Оценочный квадратик не окрашен, что свидетельствует о наличии в пробе ДНК человека.

«Общая бактериальная масса» (ОБМ) – контрольный абсолютный показатель, где значение $10^{5.7}$ соответствует критериям нормы. Оценочный квадратик не окрашен, что свидетельствует о достаточной микробной обсемененности, позволяющей оценить степень дисбиоза ($ОБМ > 10^5$).

«Транзиторная микрофлора» *Lactobacillus spp.* – контрольный относительный показатель, результат «не выявлено», соответствует критериям нормы, оценочный квадратик не окрашен.

«Сумма: Нормофлора» – относительный показатель, $-0,7Lg10$ (19–25 %) от ОБМ, что соответствует выраженному отклонению от критериев нормы, оценочный квадратик для показателя «Сумма: Нормофлора» окрашен в красный цвет. Окрашенность столбика указывает на то, что этот показатель участвует в формировании заключения.

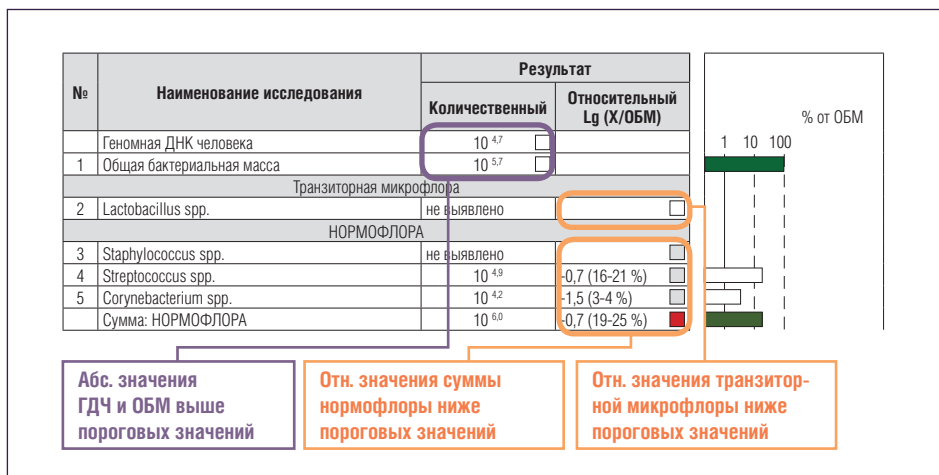


Рис. 2. Описание бланка результатов, часть 1

На рис. 3 представлена часть 2 бланка результатов со следующими показателями: «УПМ, ассоциированные с баквагинозом» – включает абсолютные и относительные показатели. В абсолютных значениях оценивают условно-патогенные генитальные микоплазмы, все остальные УПМ – в относительных значениях.

В представленном бланке условно-патогенные генитальные микоплазмы не обнаружены, оценочные квадратики не окрашены. Среди остальных УПМ значения двух показателей умеренно отличаются от критериев нормы – оценочные квадратики окрашены в желтый цвет. Относительное значение суммы всех «УПМ, ассоциированные с баквагинозом», включая генитальные микоплазмы, значительно отличается от критериев нормы: $-0,9Lg10$ (11–15 %) от ОБМ, оценочный квадратик – красный. Столбик гистограммы, соответствующий показателю, участвующему в формировании заключения, окрашен.

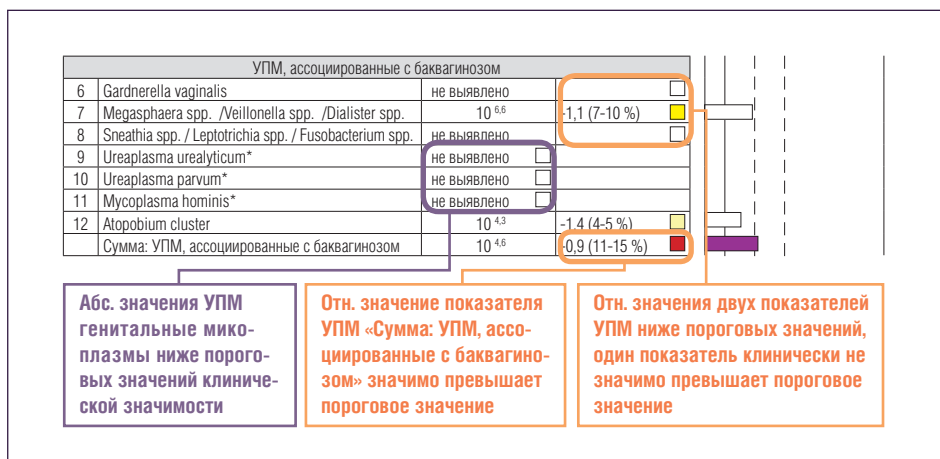


Рис. 3. Описание бланка результатов, часть 2

На рис. 4 представлена часть 2 бланка результатов со следующими показателями: «УПМ анаэробы» – включает относительные показатели. Две группы УПМ выражено отличаются от критериев нормы (оценочные квадратики окрашены в красный цвет), две группы УПМ умеренно отличаются от критериев нормы (оценочные квадратики окрашены в желтый цвет). Показатель «Сумма: УПМ анаэробы» также выражено превышает критерии нормы (оценочный квадратик красный), столбик гистограммы, соответствующий этому показателю, окрашен, т.к. показатель учитывается при формировании заключения.

«УПМ Haemophilus spp.», «УПМ Pseudomonas aeruginosa/ Ralstonia spp./ Burkholderia spp.», «УПМ Enterobacteriaceae/ Enterococcus spp.» – относительные показатели, микроорганизмы не выявлены, что соответствует критериям нормы, оценочные квадратики не окрашены.

УПМ анаэробы			
13	Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.	10 ^{5.0}	0,1 (63-85 %) ■
14	Anaerococcus spp.	10 ^{4.9}	0,5 (13-18 %) ■
15	Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.	10 ^{5.2}	0,4 (31-42 %) ■
16	Eubacterium spp.	10 ^{5.3}	0,4 (34-45 %) ■
Сумма: УПМ анаэробы		10 ^{5.9}	0,2 (85-100 %) ■
УПМ Haemophilus spp.			
17	Haemophilus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia s. p.			
18	Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.			
19	Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>

Отн. значения УПМ ниже пороговых значений

Отн. значения трех показателей УПМ значительно превышают пороговые значения, два показателя клинически не значительно превышает пороговое значение

Рис. 4. Описание бланка результатов, часть 3

На рис. 5 представлена часть 3 бланка результатов со следующими показателями: «Дрожжеподобные грибы», *Candida* spp. – абсолютный показатель, результат «не выявлено» соответствует критериям нормы, оценочный показатель не окрашен.

«Патогены», *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* – качественный показатель, оценивается наличие или отсутствие патогена, ни один из патогенов не выявлен, что соответствует критериям нормы, оценочные квадратики не окрашены.

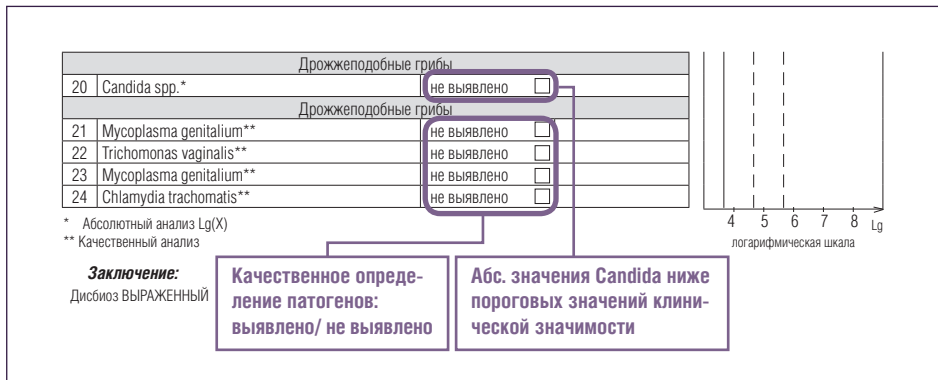
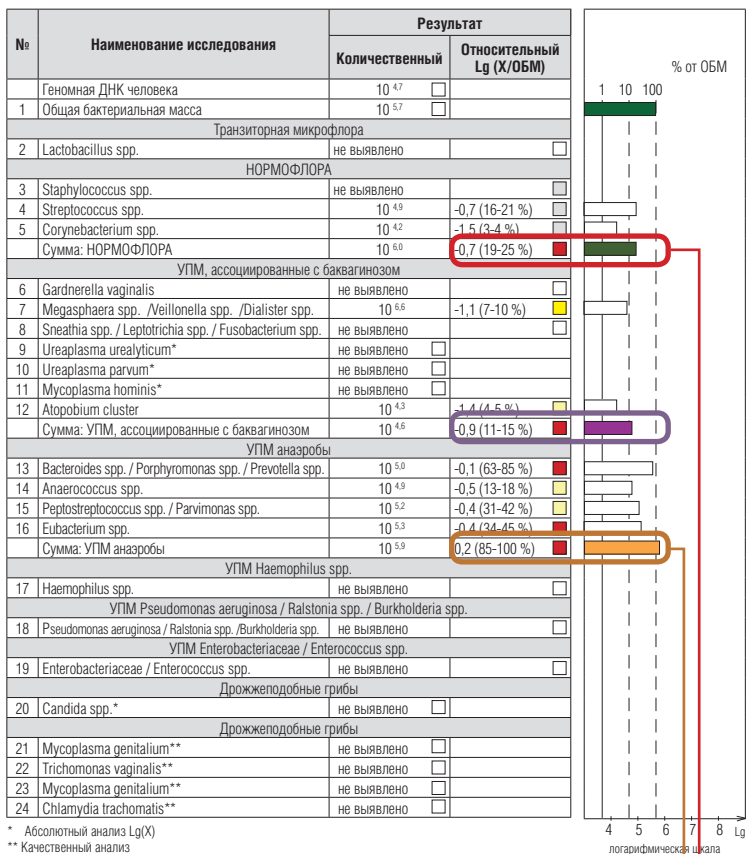


Рис. 5. Описание бланка результатов, часть 4

В соответствии с разработанным алгоритмом (приложение) программное обеспечение прибора автоматически сформировало заключение «ДИСБИОЗ ВЫРАЖЕННЫЙ» (рис. 6) на основании выраженного отклонения от критериев нормы показателя «Сумма: Нормофлора». Заключение «с преобладанием анаэробов» сформировано на основании того, что показатель «Сумма: УПМ анаэробы» значительно превышает показатель «Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом».



* Абсолютный анализ Lg(X)
 ** Качественный анализ

Заключение:

Дисбиоз **ВЫРАЖЕННЫЙ** преобладанием анаэробов

Рис. 6. Пример формирования заключения

ПРИМЕРЫ формирования разных вариантов заключений

№	Наименование исследования	Результат	
		Количественный	Относительный Lg (X/ОБМ)
	Геномная ДНК человека		
1	Общая бактериальная масса	10 ^{3,2}	
Транзиторная микрофлора			
2	Lactobacillus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
НОРМОФЛОРА			
3	Staphylococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
4	Streptococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
5	Corynebacterium spp.	10 ^{2,1}	0,0 (64-100%) <input type="checkbox"/>
	Сумма: НОРМОФЛОРА	10 ^{2,1}	0,0 (64-100%) <input checked="" type="checkbox"/>
УПМ, ассоциированные с баквагинозом			
6	Gardnerella vaginalis	не выявлено	<input type="checkbox"/>
7	Megasphaera spp. / Veillonella spp. / Dialister spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
8	Sneathia spp. / Leptotrichia spp. / Fusobacterium spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
9	Ureaplasma urealyticum*	не выявлено	<input type="checkbox"/>
10	Ureaplasma parvum*	не выявлено	<input type="checkbox"/>
11	Mycoplasma hominis*	не выявлено	<input type="checkbox"/>
12	Atopobium cluster	не выявлено	<input type="checkbox"/>
	Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ анаэробы			
13	Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
14	Anaerococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
15	Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
16	Eubacterium spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
	Сумма: УПМ анаэробы	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ Haemophilus spp.			
17	Haemophilus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.			
18	Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.			
19	Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
Дрожжеподобные грибы			
20	Candida spp.*	не выявлено	<input type="checkbox"/>
Дрожжеподобные грибы			
21	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	<input type="checkbox"/>
22	Trichomonas vaginalis**	не выявлено	<input type="checkbox"/>
23	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	<input type="checkbox"/>
24	Chlamydia trachomatis**	не выявлено	<input type="checkbox"/>

ГДЧ = 0
ОБМ = 10^{3,2}

4 5 6 7 8 Lg
логарифмическая шкала

Заключение: Недостаточное количество биоматериала, рекомендуется повторное взятие биоматериала

Рис. 7. Пример 1. Заключение «Недостаточное количество биоматериала, рекомендуется повторное взятие биоматериала»

Лабораторное заключение сформировано на основании того, что два контрольных показателя – ГДЧ (геномная ДНК человека) и ОБМ (общая бактериальная масса) одновременно не соответствуют критериям, то есть нет доказательств того, что биоматериал получен от человека.

№	Наименование исследования	Результат	
		Количественный	Относительный Lg (X/ОБМ)
	Геномная ДНК человека	10 ^{4.1}	<input type="checkbox"/>
1	Общая бактериальная масса	10 ^{3.1}	<input type="checkbox"/>
Транзиторная микрофлора			
2	Lactobacillus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
НОРМОФЛОРА			
3	Staphylococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
4	Streptococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
5	Corynebacterium spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
	Сумма: НОРМОФЛОРА	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ, ассоциированные с баквагинозом			
6	Gardnerella vaginalis	не выявлено	<input type="checkbox"/>
7	Megasphaera spp. / Veillonella spp. / Dialister spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
8	Sneathia spp. / Leptotrichia spp. / Fusobacterium spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
9	Ureaplasma urealyticum*	не выявлено	<input type="checkbox"/>
10	Ureaplasma parvum*	не выявлено	<input type="checkbox"/>
11	Mycoplasma hominis*	не выявлено	<input type="checkbox"/>
12	Atopobium cluster	не выявлено	<input type="checkbox"/>
	Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ анаэробы			
13	Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
14	Anaerococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
15	Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
16	Eubacterium spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
	Сумма: УПМ анаэробы	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ Haemophilus spp.			
17	Haemophilus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.			
18	Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
УПМ Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.			
19	Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>
Дрожжеподобные грибы			
20	Candida spp.*	не выявлено	<input type="checkbox"/>
Дрожжеподобные грибы			
21	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	<input type="checkbox"/>
22	Trichomonas vaginalis**	не выявлено	<input type="checkbox"/>
23	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	<input type="checkbox"/>
24	Chlamydia trachomatis**	не выявлено	<input type="checkbox"/>

ГДЧ = 10^{4.1}
ОБМ = 10^{3.1}

4 5 6 7 8 Lg
логарифмическая шкала

Заключение: НОРМОЦЕНОЗ

Рис. 8. Пример 2. Заключение «Нормоценоз»

Лабораторное заключение сформировано на основании того, что контрольный показатель ГДЧ (геномная ДНК человека) соответствует критериям, то есть образец биоматериала получен от человека, а контрольный показатель ОБМ (общая бактериальная масса) не соответствует критериям, то есть слишком низкий для проведения анализа структуры микробиоты. Низкая обсемененность урогенитального биотопа является нормой при отсутствии или ограничении половых контактов.

№	Наименование исследования	Результат		ЛБ= 80-100%	
		Количественный	Относительный Lg (X/ОБМ)		
1	Геномная ДНК человека	10 ^{6.3}	<input type="checkbox"/>	█	
	Общая бактериальная масса	10 ^{4.8}	<input type="checkbox"/>		
Транзиторная микрофлора					
2	Lactobacillus spp.	10 ^{4.1}	0,4 (80-100 %) <input checked="" type="checkbox"/>	█	
НОРМОФЛОРА					
3	Staphylococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>	█	
4	Streptococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
5	Corynebacterium spp.	10 ^{3.4}	-1,1 (0-9 %) <input type="checkbox"/>	█	
	Сумма: НОРМОФЛОРА	10 ^{3.4}	-1,1 (0-9 %) <input checked="" type="checkbox"/>		
УПМ, ассоциированные с баквагинозом					
6	Gardnerella vaginalis	не выявлено	<input type="checkbox"/>	█	
7	Megasphaera spp. /Veillonella spp. /Dialister spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
8	Sneathia spp. /Leptotrichia spp. /Fusobacterium spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
9	Ureaplasma urealyticum*	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
10	Ureaplasma parvum*	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
11	Mycoplasma hominis*	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
12	Atopobium cluster	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
	Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
УПМ анаэробы					
13	Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
14	Anaerococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
15	Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
16	Eubacterium spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
	Сумма: УПМ анаэробы	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
УПМ Haemophilus spp.					
17	Haemophilus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
УПМ Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.					
18	Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
УПМ Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.					
19	Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
Дрожжеподобные грибы					
20	Candida spp.*	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
Дрожжеподобные грибы					
21	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	<input type="checkbox"/>	█	
22	Trichomonas vaginalis**	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
23	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	<input type="checkbox"/>		
24	Chlamydia trachomatis**	не выявлено	<input type="checkbox"/>		

5 7 8 Lg
мужская шкала

Заключение: Превышение пороговых значений транзитной микрофлоры. Рекомендуется повторное взятие биологического материала не менее чем через три дня (с соблюдением правил подготовки к взятию биоматериала). ВНИМАНИЕ! Транзитная микрофлора может быть причиной острых воспалительных процессов в нижних отделах уrogenитального тракта.

Рис. 9. Пример 3. Заключение «Превышение пороговых значений транзитной микрофлоры. Рекомендуется повторное взятие биологического материала не менее чем через три дня (с соблюдением правил подготовки к взятию биоматериала. ВНИМАНИЕ! Транзитная микрофлора может быть причиной острых воспалительных процессов в нижних отделах уrogenитального тракта»

Лабораторное заключение сформировано на основании того, что контрольный показатель «Транзитная микрофлора *Lactobacillus spp.*» не соответствует критериям, то есть превышает допустимое значение. Это делает невозможным проведение анализа структуры собственно мужской микрофлоры.

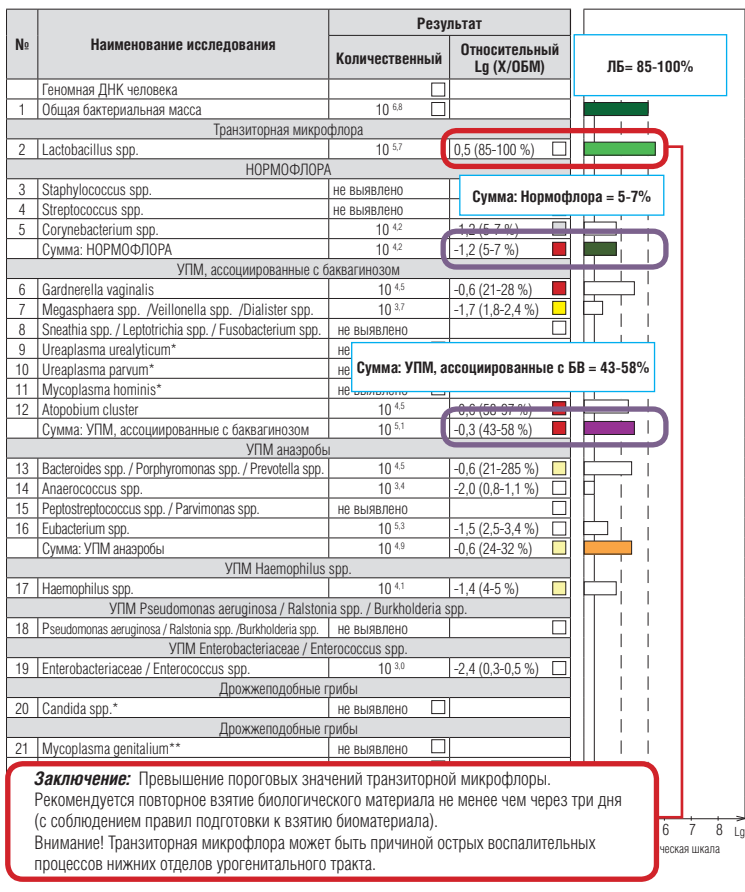


Рис. 10. Пример 4. Заключение «Превышение пороговых значений транзитной микрофлоры. Рекомендуется повторное взятие биологического материала не менее чем через три дня (с соблюдением правил подготовки к взятию биоматериала). ВНИМАНИЕ! Транзитная микрофлора может быть причиной острых воспалительных процессов в нижних отделах уrogenитального тракта»

Лабораторное заключение сформировано на основании того, что контрольный показатель «Транзитная микрофлора *Lactobacillus spp.*» не соответствует критериям. Относительный показатель «Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом» составляет 43-58 %, что значительно отличается от критериев нормы, но избыток транзитной микрофлоры делает невозможным формирование заключения о структуре собственно мужской микрофлоры. У данного пациента транзитная микрофлора может быть причиной острого заболевания нижних отделов МПС.

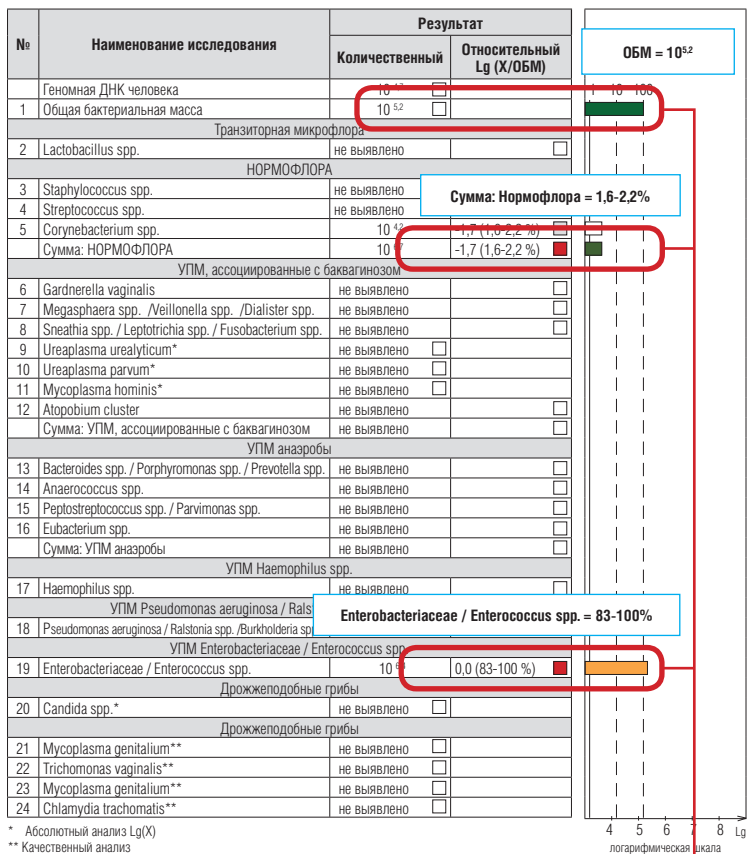
№	Наименование исследования	Результат		ОБМ = 10 ^{4,3}	
		Количественный	Относительный Lg (X/ОБМ)		
1	Геномная ДНК человека	10 ^{9,6}		10 ¹⁰⁰	
	Общая бактериальная масса	10 ^{4,3}			
2	Транзиторная микрофлора			10 ¹⁰⁰	
	Lactobacillus spp.	не выявлено			
НОРМОФЛОРА					
3	Staphylococcus spp.	не выявлено		10 ¹⁰⁰	
4	Streptococcus spp.	не выявлено			
5	Corynebacterium spp.	10 ^{4,2}	0,1 (70-95 %)		
Сумма: НОРМОФЛОРА		10 ^{4,2}	-0,1 (70-95 %)		
УПМ, ассоциированные с бактериями					
6	Gardnerella vaginalis	не выявлено		10 ¹⁰⁰	
7	Megasphaera spp. /Veillonella spp. /Dialister spp.	10 ^{2,0}	-1,3 (5-6 %)		
8	Sneathia spp. /Leptotrichia spp. /Fusobacterium spp.	не выявлено			
9	Ureaplasma urealyticum*	не выявлено			
10	Ureaplasma parvum*	не выявлено			
11	Mycoplasma hominis*	не выявлено			
12	Atopobium cluster	не выявлено			
Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом		10 ^{3,0}	-1,3 (5-6 %)		
УПМ анаэробы					
13	Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.				10 ¹⁰⁰
14	Anaerococcus spp.				
15	Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.	10			
Сумма: УПМ анаэробы		10 ^{4,5}	0,2 (83-100 %)		
УПМ Haemophilus spp.					
17	Haemophilus spp.	не выявлено		10 ¹⁰⁰	
УПМ Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.					
18	Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.	не выявлено			
УПМ Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.					
19	Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.	не выявлено			
Дрожжеподобные грибы					
20	Candida spp.*	не выявлено			
Дрожжеподобные грибы					
21	Mycoplasma genitalium**	не выявлено			
22	Trichomonas vaginalis**	не выявлено			
23	Mycoplasma genitalium**	не выявлено			
24	Chlamydia trachomatis**	не выявлено			

* Абсолютный анализ Lg(X)
 ** Качественный анализ

Заключение: ДИСБИОЗ с преобладанием анаэробов

Рис. 11. Пример 5. Заключение «Дисбиоз с преобладанием анаэробов»

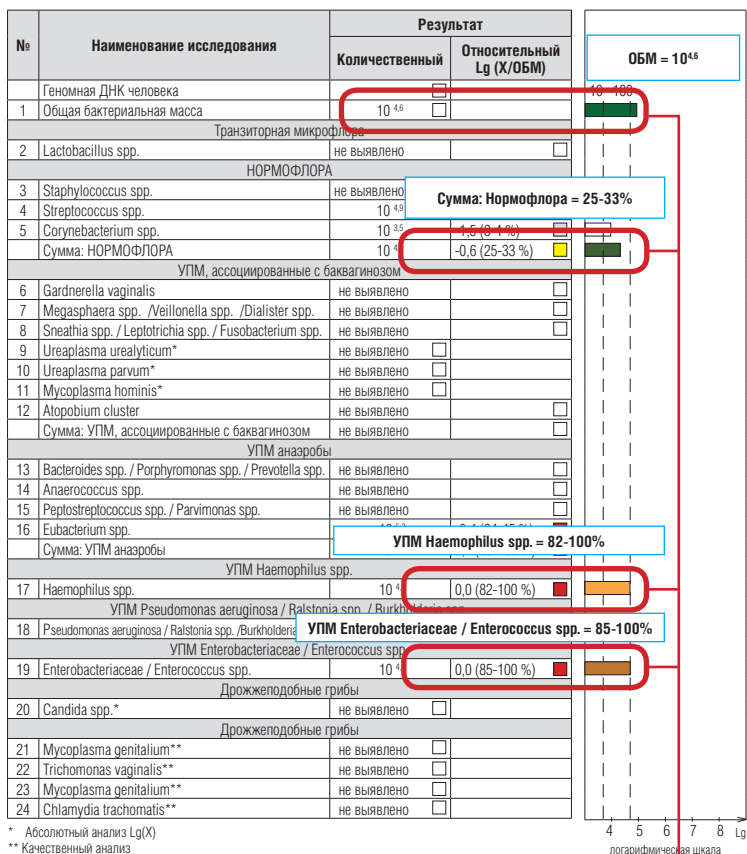
Лабораторное заключение сформировано на основании того, что ОБМ=4,3, то есть попадает в интервал 4,0-5,0 lg10, при котором оценка степени дисбиоза не проводится из-за возможных значительных математических погрешностей. Значение единственного показателя «Сумма: УПМ анаэробы» значительно превышает критерии нормы, поэтому в заключении указано «с преобладанием анаэробов».



Заключение: ДИСБИОЗ ВЫРАЖЕННЫЙ с преобладанием Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.

Рис. 12. Пример 6. Заключение «Дисбиоз выраженный с преобладанием Enterobacteriaceae/ Enterococcus spp.»

Лабораторное заключение сформировано на основании того, что ОБМ > 10⁵, то есть соответствует критерию, при котором, оценивается степень дисбиоза при условии снижения нормофлоры. Значение показателя «Сумма: Нормофлора» значительно ниже критериев нормы, поэтому в заключении указано, что дисбиоз выраженный. Значение единственного показателя «УПМ Enterobacteriaceae/ Enterococcus spp.» значительно отличается от критериев нормы, поэтому в заключении указано «с преобладанием Enterobacteriaceae/ Enterococcus spp.».



Заключение: ДИСБИОЗ смешанный

Рис. 13. Пример 7. Заключение «Дисбиоз смешанный»

Лабораторное заключение сформировано на основании того, что ОБМ находится в интервале 4,0-5,0lg10, при котором степень дисбиоза не определяется из-за возможной значительной ошибки в вычислениях. Значение показателя «Сумма: Нормофлора» умеренно ниже критериев нормы. Значения двух показателей значительно отличаются от критериев нормы и ни один из них не является преобладающим, поэтому в заключении указано, что дисбиоз смешанный.

V. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

В период 2009-2015 гг. было проведено клинико-лабораторное обследование 173 мужчин, обратившихся в лечебные учреждения с жалобами со стороны мочевого тракта с целью обследования и лечения, и 61 практически здорового мужчины – группы контроля.

Общие критерии исключения: возраст до 18 и старше 45 лет, наличие соматических заболеваний в стадии декомпенсации, онкологических заболеваний, эндокринопатии, прием системных антибактериальных препаратов в течение двух месяцев, предшествующих исследованию, применение местных лекарственных препаратов течение трех недель, предшествующих обследованию, наличие заболеваний: сифилиса, ВИЧ, гепатита В, С.

Все участники исследования были информированы о цели исследования и дали письменное согласие на участие в клинико-лабораторном обследовании.

Соскобы из мочевого тракта получали одноразовыми стерильными уретральными зондами и помещали в пластиковую пробирку типа «Эппендорф» с транспортной средой.

Всем участникам исследования был сделан тест «Андрофлор®» («ДНК-Технология», Москва) методом ПЦР в реальном времени на приборе ДТ-Prime («ДНК-Технология»).

Статистическую обработку результатов и построение ROC-кривой проводили с использованием пакета статистических программ SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA). Для описания микробиомов в группах обследуемых вычисляли медиану абсолютных и относительных количеств микроорганизмов/ групп микроорганизмов. В качестве меры дисперсии использовали верхний и нижний квартили. Сравнение групп проводили с использованием непараметрической статистики (тест Манни – Уитни).

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая характеристика контрольной группы

Группу контроля составили военнослужащие срочной службы и мужчины из семейных пар, проходившие обследование в центрах репродукции по поводу бесплодного брака, при условии выявления женского фактора бесплодия. Мужчины включались в группу контроля в том случае, если результаты клинико-лабораторного обследования не выявили воспалительной симптоматики и возбудителей ИППП.

Критерии включения в группу контроля (n=61): возраст от 18 до 45 лет, отсутствие жалоб со стороны мочеполового тракта, отсутствие клинико-анамнестических данных о заболеваниях мочеполового тракта, отсутствие незащищенных половых контактов в период не менее трех дней перед взятием биоматериала для исключения возможной примеси транзиторной микрофлоры в образце биоматериала, отсутствие ИППП, установленное методом ПЦР.

Общая характеристика опытной группы пациентов

Критерии включения в группу пациентов: возраст от 18 до 45 лет, наличие жалоб со стороны мочеполового тракта, наличие объективных клинических симптомов заболеваний нижних отделов МПС различной степени выраженности, наличие (n=42) или отсутствие (n=131) ИППП (*Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*), установленное методом ПЦР.

Обследовано 173 (n=100 %) мужчины в возрасте от 18 до 45 лет, средний возраст 30,5±8,7 лет.

Клинические характеристики опытной группы пациентов в зависимости от наличия (ИППП+) или отсутствия ИППП (ИППП-)

Две группы пациентов, сформированные на основании наличия или отсутствия возбудителей ИППП сравнили между собой по распределению жалоб и объективных клинических симптомов.

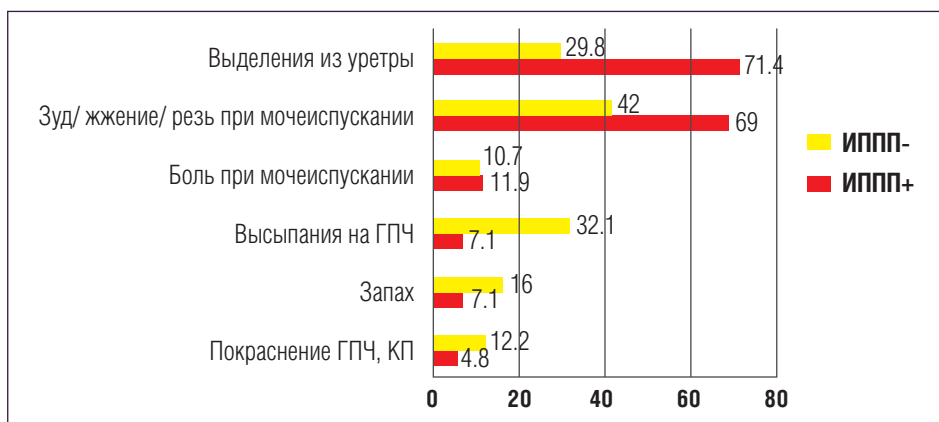


Рис. 14. Сравнительный анализ встречаемости (%) субъективных клинических симптомов воспаления в группах мужчин с наличием ИППП и отсутствием ИППП (ГПЧ – головка полового члена; КП – кожа препуция)

В группе мужчин с выявленными возбудителями ИППП (ИППП+) жалобы на зуд, жжение и резь, связанные с мочеиспусканием, встречались чаще, чем в группе мужчин, у которых возбудители ИППП не были выявлены (ИППП-). Однако высыпания на головке полового члена обнаруживались значимо чаще у мужчин из группы ИППП- (рис. 14).

Данные клинического осмотра у пациентов с ИППП+ также отличались от пациентов из группы ИППП- (рис. 15). У пациентов без ИППП чаще наблюдались высыпания (29 % против 4,8 %, $p < 0,01$) и налет на головке полового члена (14,5 % против 0, $p < 0,01$). Характер выделений из уретры в двух группах также различался: для пациентов с ИППП+ были более характерны непрозрачные и неслизистые выделения (31 % против 7,6 % $p < 0,01$), а по количеству выделений – обильные (16,7 % против 3,8 %, $p < 0,01$) или умеренные (26,2 % против 8,4 %, $p < 0,01$) в сравнении с пациентами группы ИППП-. Для пациентов без ИППП более характерными были прозрачные (36,6 % против 14,3 %, $p < 0,01$), незначительные по количеству (25,2 % против 7,1 %, $p < 0,01$) выделения.

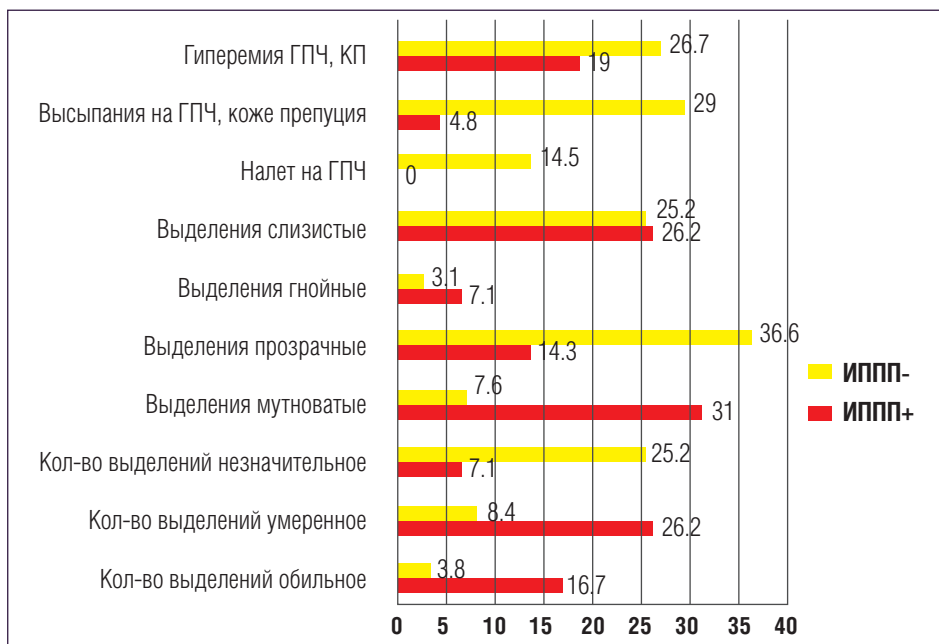


Рис. 15. Сравнительный анализ встречаемости (%) объективных клинических симптомов воспаления в группах мужчин с наличием ИППП и отсутствием ИППП

Клинический диагноз как результат анализа субъективных и объективных симптомов также различался в указанных двух группах пациентов (рис. 16): в группе пациентов с ИППП+ наиболее частым диагнозом был острый уретрит (85,7 % против 35,1 %, $<0,01$), а в группе пациентов без ИППП – острый баланопостит (45,8 % против 9,5 %, $<0,01$) и хронический уретрит (11,5 % против 0, $<0,01$).

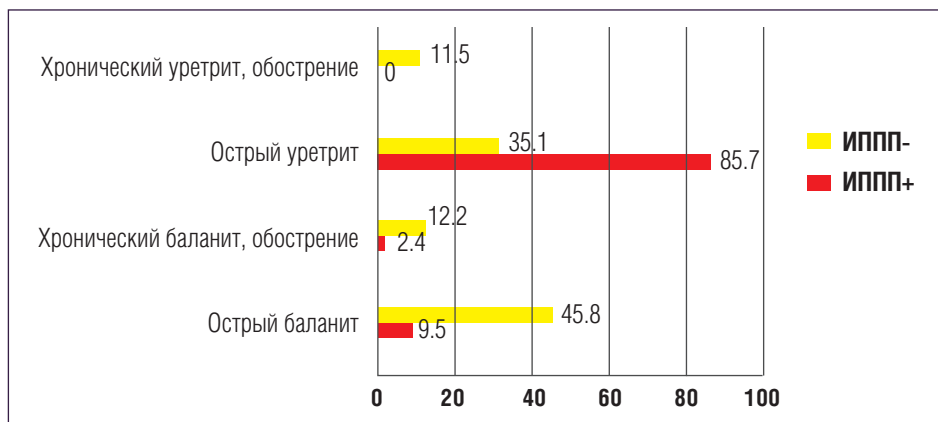


Рис. 16. Распределение (%) клинических диагнозов в группах пациентов с наличием и отсутствием ИППП

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Распределение пациентов в зависимости от выделенных возбудителей ИППП

В большинстве случаев у пациентов с ИППП+ ($n=42$) обнаруживалась *Chlamidia trachomatis* ($n=26$; 61,9 %). *Mycoplasma genitalium* была выявлена у 10 (23,8 %) пациентов, *Neisseria gonorrhoeae* – у 5 (11,9 %) и *Trichomonas vaginalis* – у 1 (2,3 %) пациента.

Микробиом у пациентов с ИППП+ в сравнении с контролем

Бактериальная обсемененность (ОБМ) у шести человек из группы контроля была ниже 4,0 \lg_{10} . Сравнительные данные по бактериальной обсемененности уретрального биотопа у пациентов с ИППП и в группе контроля представлены в таблице 3. Бактериальная обсемененность у пациентов с ИППП+ была существенно выше, чем в контрольной группе. Самый высокий уровень ОБМ был выявлен

у пациентов с *Neisseria gonorrhoeae*, он был выше, чем при инфекции, вызванной *Chlamydia trachomatis* или *Mycoplasma genitalium*. У единственного пациента с трихомонозом ОБМ составила 6,1 Lg10.

Таблица 3. Обсемененность урогенитального биотопа в группе контроля и у пациентов с ИППП+ (lg10)

Группы обследованных	Медиана	Квартили		Р (относительно гр. контроля)	Р (относительно <i>N. gonorrhoeae</i>)
		25	75		
Группа контроля	4,7	4,4	5,3		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,4	6,0	7,2	,000	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	5,7	5,2	6,1	,000	,019
<i>Mycoplasma genitalium</i>	5,5	5,3	6,3	,000	,028
Все ИППП	5,8	5,4	6,3	,000	

Наиболее выраженные изменения микробиома пациентов с ИППП+ по сравнению с группой контроля помимо наличия ИППП и увеличения ОБМ заключаются в значительном снижении относительного количества нормофлоры: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Corynebacterium spp.* и показателя «Сумма: Нормофлора» ($p=0,000$).

Диагностический показатель «Сумма: Нормофлора» кроме выявления ИППП с наилучшей точностью, по данным ROC-анализа (площадь под ROC-кривой =0,93; 0,87–1,0, $p=0,000$), отличает группу контроля от группы пациентов с ИППП+ (рис. 17).

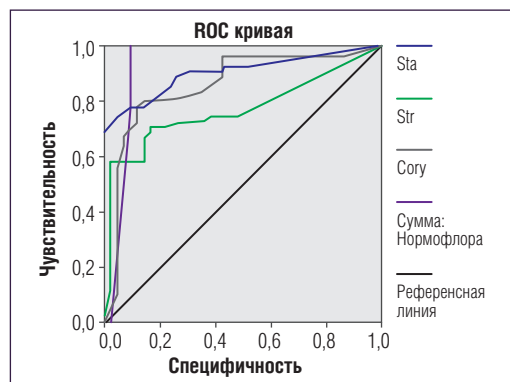
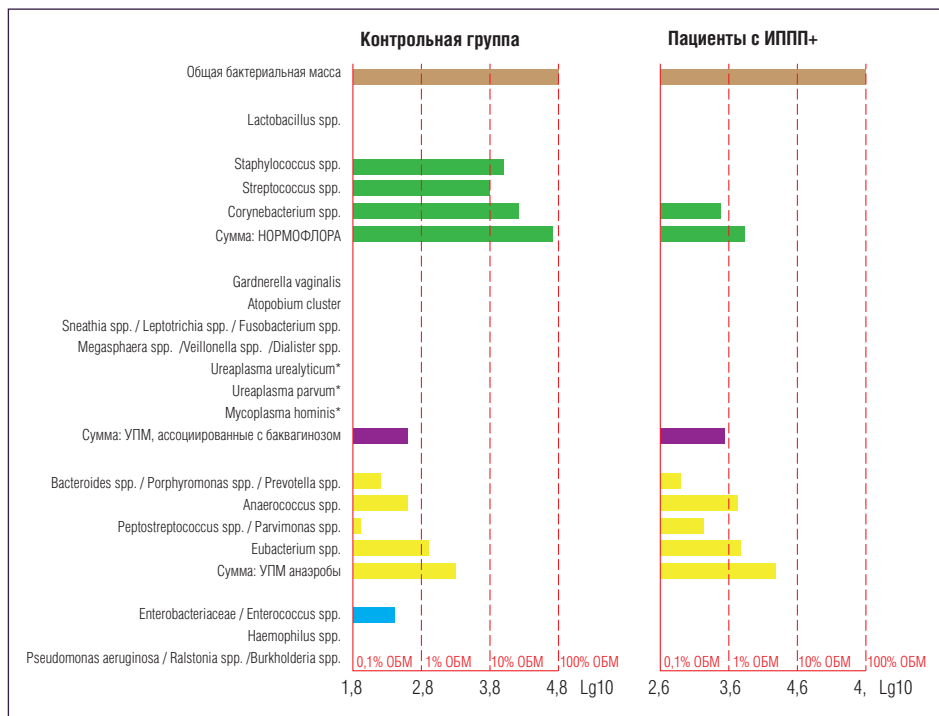


Рис. 17. ROC-кривые для диагностических тестов, с наилучшей точностью отличающих группу контроля от группы пациентов с ИППП+

Другие различия в структуре микробиома между пациентами с ИППП+ и группой контроля были не такими выраженными (рис. 18): у пациентов с ИППП+ по сравнению с группой контроля были немного, но значимо увеличены относительные количества облигатно-анаэробных УПМ: некультивируемых *Anaerococcus spp.*, а также *Peptostreptococcus spp./ Parvimonas spp.* и *Eubacterium spp.* Более высокие значения анаэробов у пациентов с ИППП+ могут свидетельствовать о возможной роли «фонового» состояния микробиома пациентов, облегчающего, возможно, инфицирование возбудителями ИППП и развитие соответствующих заболеваний.



А. Контрольная группа

Б. Пациенты с ИППП+

Рис. 18. Микробиом у пациентов с субъективными и объективными симптомами воспаления нижних отделов мочеполовой системы мужчин и у пациентов с ИППП+

Микробиом у пациентов без ИППП (ИППП-) в сравнении с контролем

Микробиомы пациентов с клиническими симптомами разных заболеваний нижних отделов мочеполовой системы (баланиты, уретриты) без ИППП сравнили между собой.

Микробиом пациентов с первичным эпизодом острого баланита значимо не отличался от микробиома пациентов с первичным эпизодом острого уретрита. На этом основании пациенты с первичным эпизодом заболеваний нижних отделов МПС (баланит, уретрит, сочетание баланита и уретрита), были объединены в одну группу пациентов с острыми заболеваниями нижних отделов МПС ($n=101,77,1\%$).

Микробиом пациентов с повторными эпизодами манифестного баланита значимо не отличался от микробиома пациентов с повторными эпизодами манифестного уретрита. На этом основании пациенты с повторными эпизодами заболеваний нижних отделов МПС (баланит, уретрит, сочетание баланита и уретрита) были объединены в одну группу пациентов с хроническими заболеваниями нижних отделов МПС ($n=30,22,9\%$).

Микробиом у пациентов с клиническими симптомами острых заболеваний МПС значимо не отличался от микробиома хронических заболеваний в нижних отделах МПС, поэтому все пациенты с клиническими симптомами заболеваний нижних отделов МПС без ИППП, острых и хронических, были объединены в одну группу пациентов ($n=131$) с заболеваниями нижних отделов МПС для сравнения с группой контроля.

Бактериальная обсемененность (ОБМ) в нижних отделах МПС у пациентов с острыми и хроническими заболеваниями без ИППП была приблизительно в 10 раз выше, чем в группе контроля ($Me=5,6, 4,9-6,3lg10$ против $Me=4,7 4,4-5,3lg10$, $p=0,000$), и значимо не отличалась от ОБМ у пациентов с ИППП+ ($Me=5,8, 5,4-6,3lg10$, $p>0,05$).

У пациентов с заболеваниями МПС без ИППП так же, как и у пациентов с заболеваниями МПС с ИППП+, было выявлено значительное снижение относительных значений показателей нормофлоры: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Corynebacterium spp.* и показателя «Сумма: Нормофлора» ($p=0,000$).

Так же, как и у пациентов с ИППП+, диагностический показатель «Сумма: Нормофлора» с наилучшей точностью, по данным ROC-анализа (площадь под ROC-кривой $=0,93; 0,89-0,97$, $p=0,000$), отличает группу контроля от группы пациентов с заболеваниями МПС без ИППП (рис. 19).

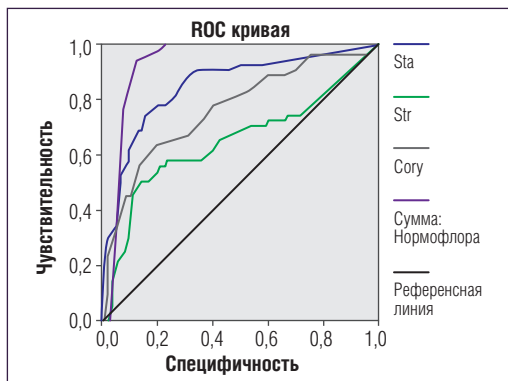


Рис. 19. ROC-кривые для диагностических тестов, с наилучшей точностью отличающих группу контроля от группы пациентов с ИППП-

Кроме снижения относительного количества нормофлоры (рис. 20), у пациентов с клиникой заболеваний МПС без ИППП в отличие от пациентов с ИППП+ было найдено небольшое, но значимое увеличение ($p=0,016$) относительного значения транзитной микрофлоры (*Lactobacillus spp.*), свидетельствующее о возможном участии транзитной микрофлоры в развитии заболеваний нижних отделов МПС у некоторых пациентов.

Также у пациентов без ИППП было выявлено увеличение относительных значений большого спектра УПМ по сравнению с контролем. Прежде всего, это относится к двум группам УПМ: бактериям, ассоциированным с бактериальным вагинозом, и анаэробам.

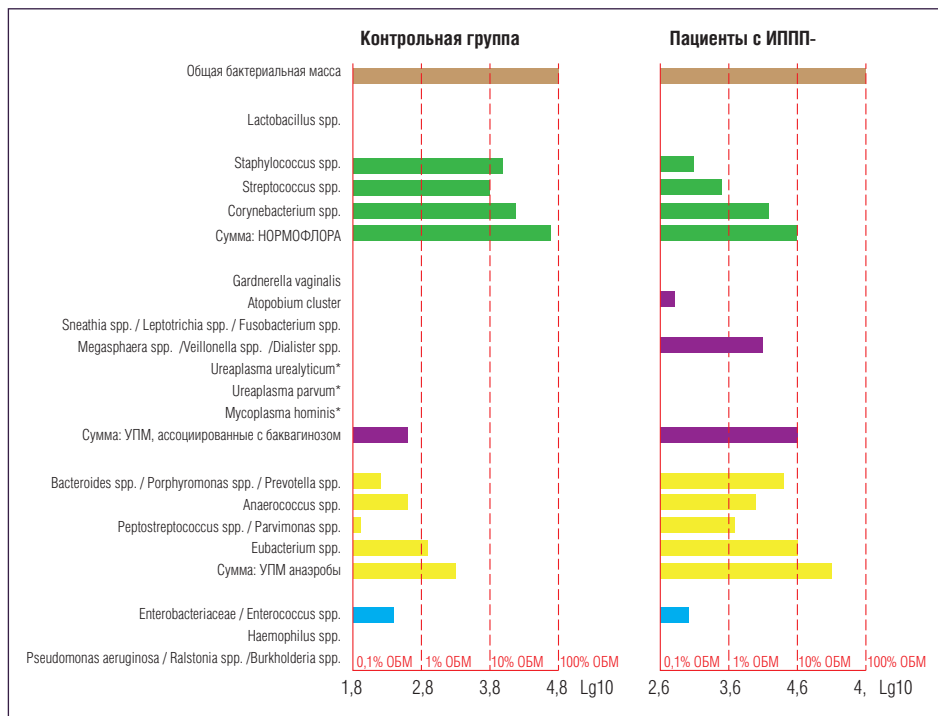
Из УПМ, относящихся к группе БВ-ассоциированных бактерий, у пациентов без ИППП по сравнению с контролем были значимо увеличены относительные количества *Gardnerella vaginalis* ($p=0,000$), *Megasphaera spp./ Veillonella spp./ Dialister spp.* ($p=0,000$), *Sneathia spp./ Leptotrichia spp./ Fusobacterium spp.* ($p=0,008$), абсолютные количества *U. urealyticum* ($p=0,007$), *U. parvum* ($p=0,001$) и *M. hominis* ($p=0,027$), хотя доля пациентов, у которых были обнаружены условно-патогенные генитальные микоплазмы, была небольшой: *U. urealyticum* в количествах более $4 \lg 10$ была выявлена у 13 пациентов (9,9%), *U. parvum* – у 10 (7,6%), а *M. hominis* – у 7 (5,3%). Относительное количество показателя «Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом», который включает еще и *Atopobium cluster* в дополнение к перечисленным показателям, также было увеличено у пациентов без ИППП по сравнению с контролем ($p=0,000$).

Из УПМ, относящихся к группе анаэробных бактерий, у пациентов без ИППП по сравнению с контролем были значимо увеличены относительные количества *Bacteroides spp./ Porphyromonas spp./ Prevotella spp.* (0,000), *Anaerococcus spp.* (0,000), *Eubacterium spp.* (0,000), *Peptostreptococcus spp./ Parvimonas spp.* (0,000)

и значение показателя «Сумма: УПМ анаэробы» ($p=0,000$), который включает все перечисленные микроорганизмы.

У пациентов без ИППП по сравнению с контролем было также значимо увеличено относительное количество *Haemophilus spp.* (0,003).

Пациенты без ИППП и группа контроля значимо не различались лишь по относительным значениям показателей тест-системы «Андрофлор®»: *Atopobium cluster*, *Pseudomonas aeruginosa*/ *Ralstonia spp.*/ *Burkholderia spp.* и *Enterobacteriaceae spp.*/ *Enterococcus spp.* и по абсолютным значениям *Candida spp.*.



А. Контрольная группа

Б. Пациенты с ИППП-

Рис. 20. Состав микрофлоры у пациентов с субъективными и объективными симптомами воспаления нижних отделов мочеполовой системы мужчин без ИППП (Б) и контрольной группы (А)

Для оценки способности диагностических показателей, входящих в тест-систему «Андрофлор®», правильно классифицировать пациентов с клиническими симптомами заболеваний нижних отделов МПС у мужчин без ИППП и контрольную группу, а также с целью выбора из их числа показателей, дифференцирующих обе группы наилучшим образом, был проведен ROC-анализ (рис. 21). В результате самую высокую диагностическую точность, которая расценивается как хорошая, продемонстрировали два показателя – «Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом» ($AUC=0,84$, $0,72-0,90$, $p=0,000$) и «Сумма: УПМ анаэробы» ($AUC=0,87$, $0,83-0,93$, $p=0,000$).

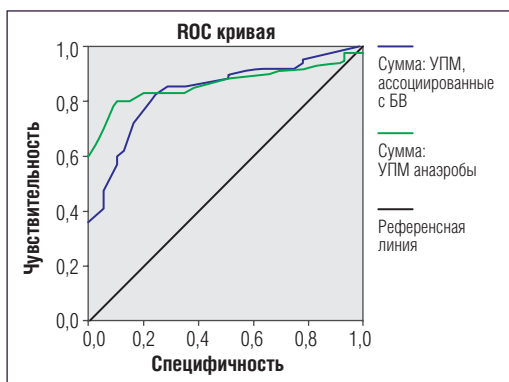


Рис. 21. ROC-кривые, соответствующие диагностическим тестам, с наилучшей точностью отличающим группу пациентов от группы контроля («Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом» и «Сумма: УПМ анаэробы»)

Для определения, комбинация каких диагностических показателей наилучшим образом дифференцирует пациентов без ИППП от группы контроля, был проведен дискриминантный анализ. Наибольшая корректность разделения пациентов без ИППП и группы контроля наблюдалась при использовании трех классифицирующих признаков – «Сумма: Нормофлора», «Сумма: УПМ, ассоциированные с баквагинозом» и «Сумма: УПМ анаэробы» – и составила 91,4 %.

ВЫВОДЫ

Клинические симптомы при заболеваниях нижних отделов мочеполового тракта различаются у пациентов с заболеваниями, вызванными ИППП, и условно-патогенными микроорганизмами: для пациентов с ИППП характерна большая выраженность клинической симптоматики и более частое поражение уретры, чем у пациентов без ИППП, однако эти различия не являются абсолютными.

Этиология заболеваний МПС, вызванных не ИППП, имеет сложный характер. Клинические симптомы вызывают увеличение обсемененности урогенитального биотопа не одним, а комплексом УПМ, включающим разные группы УПМ.

Сходство микробиомов у пациентов с заболеваниями нижних отделов МПС с ИППП+ и без ИППП заключается в увеличении уровня бактериальной обсемененности урогенитального биотопа и снижении относительного уровня нормофлоры по сравнению с нормальным микробиомом.

Различия в составе микробиомов пациентов с заболеваниями нижних отделов МПС с ИППП+ и без ИППП заключаются в значительном увеличении у пациентов без ИППП разных УПМ, из которых наиболее значимыми являются две группы – бактерии, ассоциированные с бактериальным вагинозом, и анаэробы (по сравнению с нормальным микробиомом).

ЛЕЧЕНИЕ

Для обеспечения наилучшего эффекта минимальным количеством лекарственных средств терапию заболеваний нижних отделов мочеполовой системы у мужчин необходимо проводить с учетом этиологии заболевания. В таблице 4 представлена информация о лекарственных препаратах, которые рекомендуются для лечения заболеваний МПС, вызванных микроорганизмами, определяемыми тест-системой «Андрофлор®».

Таблица 4

Показатели тест-системы «Андрофлор®»	Микроорганизмы, входящие в группы	Препарат/ группа препаратов	Источник информации
УПМ, ассоциированные с бактериальным вагинозом	<i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Atopobium cluster</i> , <i>Megasphaera spp./ Veillonella spp./ Dialister spp</i> , <i>Sneathia spp./ Leptotrichia spp./ Fusobacterium spp.</i>	Нитроимидазолы: Metronidazole	[29, 30]
	<i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma parvum</i>	Дохуцилин	[31, 32]
УПМ анаэробы	<i>Bacteroides spp./ Porphyromonas spp./ Prevotella spp</i> , <i>Anaerococcus spp, Eubacterium spp, Peptostreptococcus spp./ Parvimonas spp.</i>	Нитроимидазолы: Metronidazole	[33, 34, 35,]
УПМ <i>Pseudomonas aeruginosa/ Ralstonia spp./ Burkholderia spp</i>		Фторхинолоны, карбапенемы	[36, 37, 38]
УПМ <i>Haemophilus spp.</i>		Azithromycin	[39]
УПМ <i>Enterobacteriaceae/ Enterococcus spp.</i>		Фторхинолоны: епокасцин, флороксацин, ломефлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин	[40]
Грибы <i>Candida spp.</i>		Fluconazole	[35, 40]
Патогены	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Azithromycin	[40, 41]
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Azithromycin	[40, 41]
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Azithromycin	[40, 41]
	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Нитроимидазолы: Metronidazole	[40, 41]

ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Описан метод лабораторной диагностики заболеваний нижних отделов мочеполовой системы у мужчин. При использовании предложенного метода негативные побочные явления выявлены не были.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДА

Исследование микрофлоры урогенитального тракта мужчин методом ПЦР в режиме реального времени, выполненное с использованием тест-системы «Андрофлор®», «Андрофлор®Скрин» обеспечивает возможность лабораторной диагностики заболеваний нижних отделов мочеполовой системы у мужчин в разных типах биоматериала, рекомендованных для исследования стандартами медицинской помощи, утвержденными Минздравом России в 2012 г.

Предлагаемый список микроорганизмов составлен на основе данных мировой литературы о нормальном микробиоме мужского мочеполового тракта, возможных возбудителях заболеваний мочеполовой системы у мужчин и с учетом экономических требований. Исследование с использованием тест-системы «Андрофлор®» может не только полностью заменить комплекс методов, предлагаемых в стандартах медицинской помощи, утвержденных Минздравом России в 2012 г., но и расширить его за счет диагностики плохо- и некультивируемых облигатных анаэробов, которые невозможно определить стандартными методами лабораторной диагностики.

Использование некультурального метода ПЦР-РВ для выполнения исследования с помощью тест-системы «Андрофлор®», «Андрофлор®Скрин», имеет ряд преимуществ перед стандартными культуральными микробиологическими методами: значительно менее жесткие требования к преаналитическому этапу, включая взятие биоматериала и его доставку в лабораторию, что необходимо для сохранения количественных соотношений между микроорганизмами, значительно меньший риск влияния на результат исследования контаминации образцов микроорганизмами из внешней среды, равные условия по чувствительности и специфичности для всех микроорганизмов, в том числе некультивируемых и труднокультивируемых, которые предполагается диагностировать, высокая скорость получения результата (несколько часов).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, описан эффективный способ лабораторной диагностики заболеваний нижних отделов мочеполовой системы у мужчин, позволяющий проводить комплексную количественную оценку структуры урогенитального микробиома, включая нормофлору, ИППП, широкий спектр условно-патогенных микроорганизмов, и грибов рода *Candida* с целью этиологической диагностики инфекционного процесса в МПС. Полученная в результате использования описанного способа информация об этиологии инфекционного процесса обеспечивает возможность оптимизации и индивидуализации лекарственной терапии, снижает необходимость избыточного назначения лекарственных средств.

Способ позволяет в короткие сроки объективно:

- 1) оценить качественный и количественный состав микробиома нижних отделов МПС у мужчин;
- 2) проводить этиологическую диагностику инфекционных заболеваний нижних отделов МПС;
- 3) оптимизировать и индивидуализировать лекарственную терапию;
- 4) проводить мониторинг эффективности терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Birley H.D.L., Walker M.M., Luzzi G.A. et al. Clinical features and management of recurrent balanitis; association with atopy and genital washing. *Genitourin Med* 1993; 69: 400-3.
2. Fomasa C.V., Calabro A., Miglietta A. et al. Mild balanoposthitis. *Genitourin Med* 1994; 70: 345-6.
3. Borelli S., Lautenschlager S. Differential diagnosis and management of balanitis. *Hautarzt*. 2015 Jan; 66 (1): 6-11.
4. Edwards S.K., Bunker C.B., Ziller F., Meijden W.I. 2013 European guideline for the management of balanoposthitis. *International Journal of STD & AIDS* 2014, Vol. 25 (9) 615–626.
5. Manhart L.E., Khosropour C.M., Liu C. et al. Bacterial vaginosis-associated bacteria in men: association of *Leptotrichia*/ *Sneathia* spp. with nongonococcal urethritis. *Sex Transm Dis*. 2013; 40: 944–9
6. Wetmore C.M., Manhart L.E., Lowens M.S. et al. Demographic, Behavioral, and Clinical Characteristics of Men With Nongonococcal Urethritis Differ by Etiology: A Case-Comparison Study. *Sex Transm Dis*. 2011 March; 38 (3): 180–186.
7. Brook I. Urinary tract and genito-urinary suppurative infections due to anaerobic bacteria. *International Journal of Urology* (2004) 11, 133–141
8. Mazuecos J., Aznar J., Rodriguez-Pichardo A. et al. Anaerobic bacteria in men with urethritis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 1998 May; 10 (3): 237-42.
9. Hallen A., Ryden A.-C., Schwan A., Wallin J. The possible role of anaerobic bacteria in the aetiology of non-gonococcal urethritis in men. *British Journal of Venereal Diseases*, 1977, 53, 368-371
10. Fontaine E.A., Taylor-Robinson D., Hanna N.F., Coufalic E.D. Anaerobes in men with urethritis. *Br J Vener Dis* 1982; 58: 321-6
11. Кочетов А. Г. О создании рабочей группы по медицинской микробиологии в составе профильной комиссии Минздрава России по клинической лабораторной диагностике // *Справочник заведующего КДЛ*. – 2013. – № 8. – С. 4-7.
12. Тартаковский И. С. Перспективы развития микробиологических исследований в системе клинической лабораторной диагностики в России // *Справочник заведующего КДЛ*. – 2014. – № 9. – С. 8-14.
13. Bowie W.R., Pollock H.M., Forsyth P.S., Floyd J.F. et al. Bacteriology of the urethra in normal men and men with nongonococcal urethritis. *J Clin Microbiol*. 1977 Nov; 6 (5): 482-8

14. Nelson D.E., Dong Q., Van der Pol B. et al. Bacterial communities of the coronal sulcus and distal urethra of adolescent males. *PLoS One*. 2012; 7 (5): e36298.
15. Heid C.A., Stevens J., Livak K.J., Williams P.M. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996 Oct; 6 (10): 986-94.
16. Melendez J.H., Frankel Y.M., An A.T. et al. Real-time PCR assays compared to culture-based approaches for identification of aerobic bacteria in chronic wounds. *Clin Microbiol Infect*. 2010 Dec; 16 (12): 1762-9.
17. Pernica J.M., Moldovan I., Chan F., Slinger R. Real-time polymerase chain reaction for microbiological diagnosis of parapneumonic effusions in Canadian children. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2014 May; 25 (3): 151-4.
18. Horváth Á., Pető Z., Urbán E. et al. A novel, multiplex, real-time PCR-based approach for the detection of the commonly occurring pathogenic fungi and bacteria. *BMC Microbiol*. 2013 Dec 23; 13: 300.
19. Clifford R.J., Milillo M., Prestwood J. et al. Detection of bacterial 16S rRNA and identification of four clinically important bacteria by real-time PCR. *PLoS One*. 2012; 7 (11): e48558.
20. Cockerill F.R. Application of rapid-cycle real-time polymerase chain reaction for diagnostic testing in the clinical microbiology laboratory. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 2003, 127: 1112–1120.
21. Espy M.J., Uhl J.R., Sloan L.M. et al. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Jan; 19 (1): 165-256.
22. Guglielmetti M.R, Rosa E.F, Lourençãõ D.S. et al. Detection and quantification of periodontal pathogens in smokers and never-smokers with chronic periodontitis by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol*. 2014 Oct; 85 (10): 1450-7.
23. Zemanick E.T., Wagner B.D., Sagel S.D. et al. Reliability of quantitative real-time PCR for bacterial detection in cystic fibrosis airway specimens. *PLoS One*. 2010 Nov 30; 5 (11): e15101.
24. Haarman M., Knol J. Quantitative real-time PCR assays to identify and quantify fecal *Bifidobacterium* species in infants receiving a prebiotic infant formula. *Appl Environ Microbiol*. 2005 May; 71 (5): 2318-24.)
25. Jaspers V., Menten J., Smet H. et al. Quantification of bacterial species of the vaginal microbiome in different groups of women, using nucleic acid amplification tests. *BMC Microbiol*. 2012 May 30; 12: 83.
26. Болдырева М. Н., Липова Е. В., Алексеев Л. П. и соавт. Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в режиме реального времени // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. Том LVIII, выпуск 6. – С. 36-42.
27. Ворошила Е. С., Тумбинская Л. В., Донников А. Е. и соавт. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: изменения и коррекция во время бере-

- менности // Уральский медицинский журнал. – 2010. – № 03 (68). – С. 108-111.
28. Шипицына Е. В., Мартикайнен З. М., Воробьева Н. Е. и соавт. Применение теста Фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – № 3. – С. 38-44.
 29. Fredricks D.N., Fiedler T.L., Thomas K.K. et al. Changes in vaginal bacterial concentrations with intravaginal metronidazole therapy for bacterial vaginosis as assessed by quantitative PCR. *J Clin Microbiol.* 2009 Mar; 47 (3): 721-6.
 30. Sobel R., Sobel J.D. Metronidazole for the treatment of vaginal infections. *Expert Opin Pharmacother.* 2015 May; 16 (7): 1109-15.
 31. Schneider S.C., Tinguely R., Droz S. et al. Antibiotic Susceptibility and Sequence Type Distribution of *Ureaplasma* Species Isolated from Genital Samples in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Oct; 59 (10): 6026–6031.
 32. Wang Q.Y., Li R.H., Zheng L.Q., Shang X.H. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in female outpatients, 2009-2013. *J Microbiol Immunol Infect.* 2016 Jun; 49 (3): 359-62.
 33. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С.Н. Козлова. – Изд-во НИИАХ СГМА, 2002. – 586 с.
 34. Brook I. Spectrum and treatment of anaerobic infections. *J Infect Chemother.* 2016 Jan; 22 (1): 1-13.
 35. Edwards S.K., Bunker C.B., Ziller F., Meijden W.I. 2013 European guideline for the management of balanoposthitis. *International Journal of STD & AIDS* 2014, Vol. 25 (9) 615–626.
 36. Rhodes K.A., Schweizer H.P. Antibiotic resistance in *Burkholderia* species. *Drug Resist Updat.* 2016 Sep; 28: 82-90.
 37. Nimri L., Sulaiman M., Hani O.B. Community-acquired urinary tract infections caused by *Burkholderia cepacia* complex in patients with no underlying risk factor. *JMM Case Rep.* 2017 Jan 31; 4 (1): e005081.
 38. Arizpe A., Reveles K.R., Patel S.D., Aitken S.L. Updates in the Management of Cephalosporin- Resistant Gram-Negative Bacteria. *Curr Infect Dis Rep.* 2016 Dec; 18 (12): 39.
 39. Ito S., Hatazaki K., Shimuta K. et al. *Haemophilus influenzae* Isolated From Men With Acute Urethritis: Its Pathogenic Roles, Responses to Antimicrobial Chemotherapies, and Antimicrobial Susceptibilities. *Sex Transm Dis.* 2017 Apr; 44 (4): 205-210.
 40. Grabe M., Bartoletti R., Johansen T.E.B. et al. Guidelines on Urological Infections © European Association of Urology 2015. https://uroweb.org/wp-content/uploads/19-Urological-infections_LR2.pdf
 41. Wagenlehner F.M.E, Brockmeyer N.H, Discher T. et al. The presentation, diagnosis and treatment of sexually transmitted infections. *Dtsch Arztebl Int* 2016; 113: 11–22.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПРИНЦИПИАЛЬНАЯ СХЕМА АЛГОРИТМА АВТОМАТИЧЕСКОЙ ТРАКТОВКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ ТЕСТ-СИСТЕМОЙ «АНДРОФЛОР®»

