

С.Ю. Гончарова¹, Л.П. Голодок¹, О.В. Хлопова²

**ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОФЛОРИ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ
ЖІНОК ДНІПРОПЕТРОВСЬКІЙ ОБЛАСТІ
ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДУ ПОЛІМЕРАЗНО-ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ**

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна

²Діагностичний центр медичної академії міста Дніпропетровськ, Україна

E-mail: svetlana_honcharova@mail.ru

Виділено та ідентифіковано збудників патологічних станів уrogenітального тракту у 100 жінок віком від 26 до 55 років у Діагностичному центрі медичної академії міста Дніпропетровськ за допомогою методу полімеразно-ланцюгової реакції. Досліджена мікрофлора була представлена ВПЛ високого та низького канцерогенного ризику, ВПГ 1+2 типів, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis* та дріжджами роду *Candida*. За частотою виділення найпоширенішими збудниками патологічних станів репродуктивної системи жінок є ВПЛ високого канцерогенного ризику, *Ureaplasma urealyticum* та *Chlamydia trachomatis*.

Ключові слова: плр в кінцевій точці, уrogenітальний тракт, ідентифікація, дисбіоз, біота.

С.Ю. Гончарова¹, Л.П. Голодок¹, О.В. Хлопова²

**ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА
ЖЕНЩИН ДНЕПРОПЕТРОВСКОЙ ОБЛАСТИ
С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНО-ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ**

¹Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара

²Диагностический центр медицинской академии города Днепропетровска, Украина

E-mail: svetlana_honcharova@mail.ru

Выделены и идентифицированы возбудители патологических состояний уrogenитального тракта у 100 женщин возрастом 26-55 лет в Диагностическом центре медицинской академии г. Днепропетровск с помощью метода полимеразно-цепной реакции. Исследованная микрофлора была представлена ВПЧ высокого та низкого канцерогенного риска, ВПГ 1 и 2 типов, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis* и дрожжами рода *Candida*. По частоте выделения наиболее распространенными возбудителями патологических состояний репродуктивной системы женщин являются ВПЧ высокого канцерогенного риска - *Ureaplasma urealyticum* и *Chlamydia trachomatis*.

Ключевые слова: плр в конечной точке, уrogenитальный тракт, идентификация, дисбиоз, биота.



S.Y. Honcharova¹, L.P. Golodok¹, O.V. Khlopova²
**STUDY OF UROGENITAL TRACT MICROFLORA
OF DNEPROPETROVSK FEMALES BY POLYMERASE CHAIN REACTION**

¹Oles Honchar Dnipropetrovsk National University

²The Diagnostic Center of Dnepropetrovsk Medical Academy, Ukraine

E-mail: svetlana_honcharova@mail.ru

We isolated and identified the pathogens from the urogenital tract in 100 women of 26-55 years in Diagnostic Center of Dnepropetrovsk Medical Academy by polymerase chain reaction. It was found that all investigated microflora was represented by HPV of high and low cancer risk - HSV type 1+2, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Candida* yeast species. The most abundant pathogens from the urogenital tract were HPV, *Ureaplasma urealyticum*, and *Chlamydia trachomatis*.

Key words: pcr in endpoint, urogenital tract, identification, dysbiosis, biota.

ВСТУП

В даний час інфекційно-запальні захворювання уrogenітального тракту займають лідируючі позиції в структурі акушерсько-гінекологічної патології. Частота виникнення таких захворювань супроводжуються вираженими порушеннями вагінальної мікрофлори і не мають тенденції до зниження (Болдырева, 2010; Сидорова, 2007).

Дисбаланс вагінальної мікрофлори жінок представляє порушення кількісно-якісних взаємин резидентних мікроорганізмів - сапрофітних та умовно-патогенних, що населяють уrogenітальний тракт в нормі, а також з ураженням сечостатевої системи агентами вірусної природи (Болдырева, 2010). Такі порушення нормальної мікрофлори репродуктивного так як можуть сприяти перериванню вагітності, передчасним пологам, внутрішньоутробному інфікуванню плода й післяпологових ускладнень у матері (Нікуліна, Соколова, Вінніков, 2012).

Все більше широкого значення набувають молекулярно-генетичні методи ідентифікації мікроорганізмів, які дозволяють розширити уявлення про стан мікробіоценозу та дозволяють вирішити проблему швидкої та якісної ідентифікації представників статевих шляхів жінки в нормі та при патологічних станах (Mehta et al., 1995).

Стрімкий розвиток лабораторних технологій привів до впровадження методу ПЛР з детекцією результатів по закінченні реакції для виявлення патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів та агентів вірусної природи, які спричиняють різноманітні порушення в репродуктивній системі жінок різного віку (Фоляк та ін., 2010).

Виходячи з актуальності проблеми, метою роботи було виділення і ідентифікація збудників патологічних станів уrogenітального тракту жінок за допомогою ПЛР з детекцією результатів в кінцевій точці та проведення аналізу співвідношення виділених мікроорганізмів та агентів вірусної природи на основі отриманих результатів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єкт дослідження: аналіз співвідношення патогенної та умовно-патогенної аеробної і анаеробної мікрофлори уrogenітального тракту, а також збудників вірусної природи у жінок різного репродуктивного віку. З метою визначення розповсюдженості вищевказаних збудників інфекційно-запальних процесів уrogenітального тракту дослідження проводилися на базі Діагностичного центру медичної академії міста Дніпропетровськ.

Предметом дослідження були штами патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, а також агенти вірусної природи: *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Candida spp.*, та віруси простого гепересу 1-го і 2-го типів (ВПГ 1+2), та вірус папіломи людини високого (ВПЛ ВКР) та низького канцерогенного ризику (ВПЛ НКР), виділених із уrogenітального тракту жінок.

Для проведення дослідів було обстежено 100 жінок віком від 26 до 55 років з інфекційно-запальними процесами уrogenітального тракту в період з вересня по березень 2014-2015 років за допомогою ПЛР з детекцією результатів в кінцевій точці (ПЛР-КТ).

Для молекулярно-генетичного дослідження у жінок відбирали клінічні зразки у вигляді зішкребу з піхви та цервікального каналу за допомогою одноразового стерильного інструменту. Отриманий клінічний зразок поміщали в пробірку, що містила транспортне середовище з муколітиком, і доставляли в лабораторію для проведення ПЛР-КТ (Мавров та ін., 2005).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У ході дослідження була вивчена мікрофлора уrogenітального тракту 100 жінок, які звернулися до лікаря з різними дисбіотичними порушеннями. Аналіз частоти виділення патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, а також вірусів при різних патологічних станах, що найчастіше виявлялись серед 100 досліджуваних жінок (рис. 1):

ВПЛ високого канцерогенного ризику, ВПЛ ВКР - 51,4%, *Ureaplasma urealyticum* (28,2%), *Chlamydia trachomatis* (7,0%), ВПГ 1 та 2 типів (4,2%), *Trichomonas vaginalis* (3,5%), дріжджі роду *Candida spp.* (2,8%). *Mycoplasma hominis* (1,4%) та ВПЛ низького канцерогенного ризику, ВПЛ НКР - 1,4%.

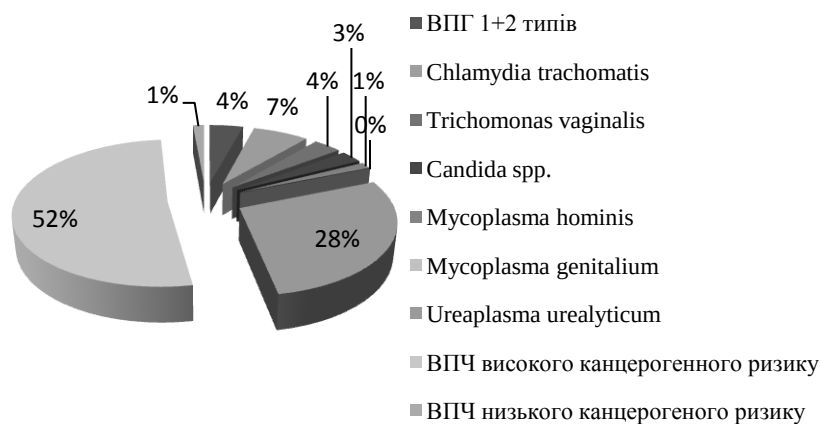


Рис. 1. Частота виділення патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів та агентів вірусної природи уrogenітального тракту жінок.

Для проведення аналізу динаміки патологічних змін біоценозу репродуктивної системи досліджуваних жінок було умовно поділено на три вікові групи: I вікова група – жінки віком від 18 до 25, II вікова група – жінки віком від 26-42 років, III – від 43 до 55 років. Це було зроблено з метою більш детального вивчення мікробного пейзажу уrogenітального тракту жінок різного репродуктивного віку при дисбіотичних порушеннях спричинених певним збудником (рис. 2).

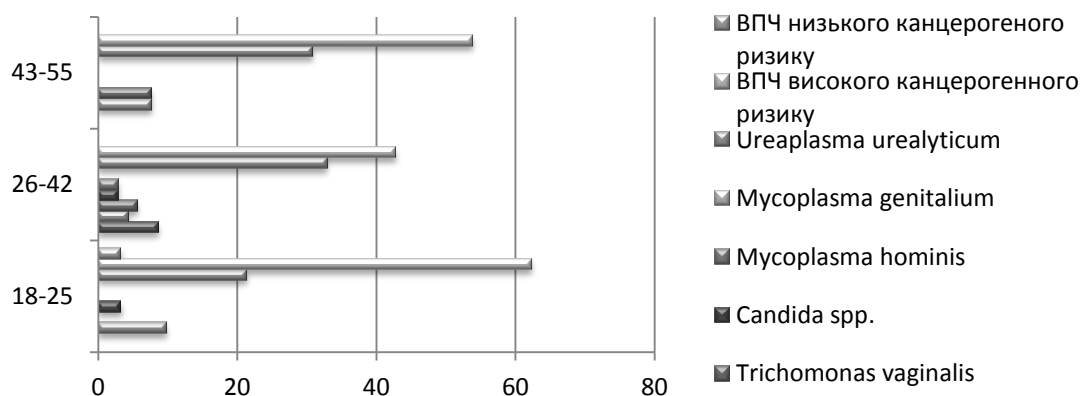


Рис. 2. Мікробний пейзаж мікрофлори уrogenітального тракту різних вікових груп.

На рисунку 2. представлено, що у першій віковій групі (18-25 років) в більшій кількості були виділені ВПЧ високого канцерогенного ризику (62,3%), в меншій кількості *Ureaplasma urealyticum* (21,3%), а також *Chlamydia trachomatis*

(9,8%) та дріжджі роду *Candida spp.* (3,3%). У другій віковій групі (26-42 років) в більшій кількості були виділені ВПЛ високого канцерогенного ризику (42,8%), *Ureaplasma urealyticum* (32,9%), а також ВПГ 1 та 2 типів (8,6%), *Trichomonas vaginalis* (5,7%), *Chlamydia trachomatis* (4,3%), *Mycoplasma hominis* та дріжджі роду *Candida spp.* (2,9%). В третій віковій групі в більшій кількості було виділено ВПЛ ВКР (53,8%) та *Ureaplasma urealyticum* (30,8%) та в меншій кількості *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* (по 7,7%).

На сучасному етапі ПВІ займає одне із ведучих місць за поширенням серед урогенітальних інфекцій особливо у жінок репродуктивного віку, що пов'язано з різким ростом захворюваності, значною контагіозністю і високим онкогенним потенціалом [Baner, 1999]. В епідеміологічних дослідженнях ПВІ переконливо представлена соціальна значимість і небезпека уражень урогенітального тракту ВПЛ (Кондратикова, 2009).

Типи ВПЛ, що вражають генітальну область, поділяють за ступенем онкогенного ризику. ВПЛ типу 6, 11, 36, 42, 43, 44, 46, 47, 50 можуть викликати незначні зміни ядер клітин, у той час як типи ВПЛ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66 є основним етіологічним фактором передракових і ракових уражень шийки матки (Молочков, Соколова, 2009). Перелік типів ВПЛ високого онкогенного ризику розширюється за рахунок уточнення будови ДНК і появи нових типів проміжного ризику (Lie et al., 2005).

Серед всіх трьох вікових груп в найбільшій кількості були виділені ДНК ВПЛ високого (ВПЛ: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типів) та низького канцерогенного ризику (11 тип ВПЛ) у третій віковій групі (див. рис. 3).

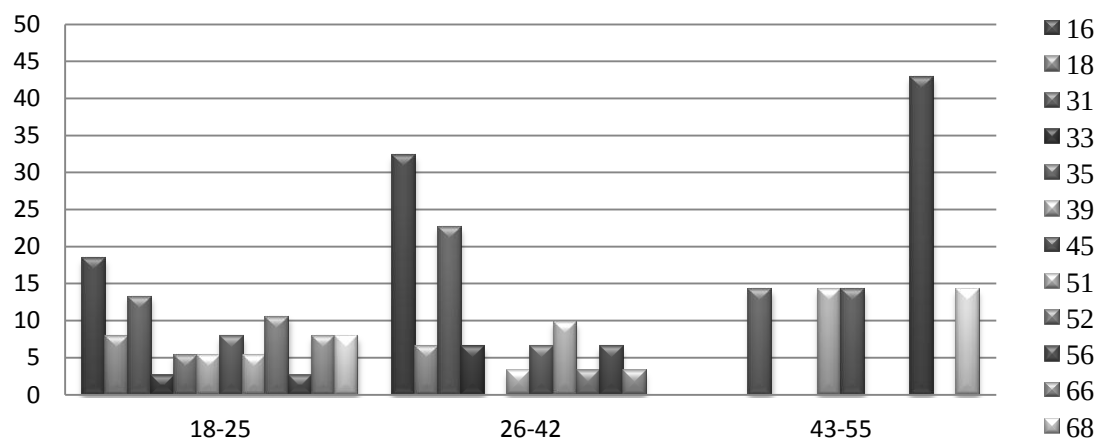


Рис. 3. Кількість ВПЛ, виділених з урогенітального тракту жінок відносно вікових груп, %.

З рис. 4 ми бачимо, що у першій віковій групі з віком від 18 до 25 років серед всіх типів ВПЛ високого канцерогенного ризику в найбільшій кількості були виділені ВПЛ типів 16 (18,4%), 31 (13,2%), 52 (10,5%). В меншій кількості були виділені (по 7,9%) 18, 45, 66 та 68 типи ВПЛ; (по 5,3%) 35, 39, 51 типи ВПЛ; та в найменшій кількості (по 2,6%) 33 та 56 типи ВПЛ. Також у першій віковій групі було виявлено ВПЛ низького канцерогенного ризику тип 11 (2,6%).

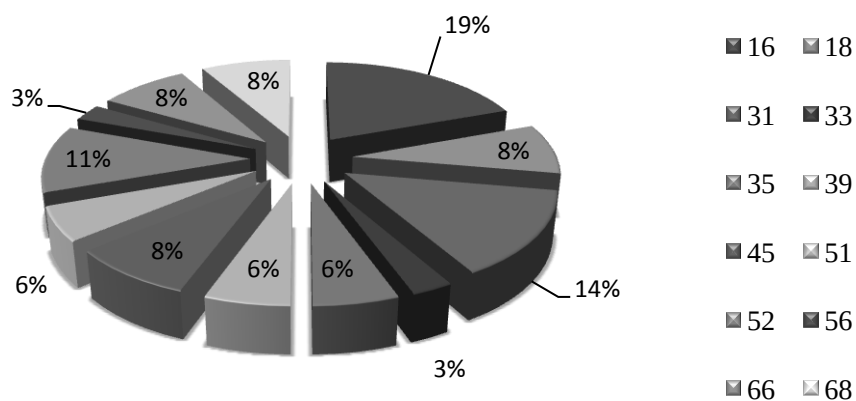


Рис. 4. Співвідношення різних типів ВПЛ у першій віковій групі.

Щодо другої вікової групи (рис. 5), то серед всіх типів ВПЛ ВКР частіше було виділено 16 (32,3%) та 31 (22,6%) типи ВПЛ. Також в даній віковій групі було виділено 51 (9,7%), 18 (6,5%), 33 (6,5%), 45 (6,5%), та 56 (6,5%) типи ВПЛ; 39, 52, 66 типи ВПЛ (по 3,2%). Типи 35, 68 виявлено не було.

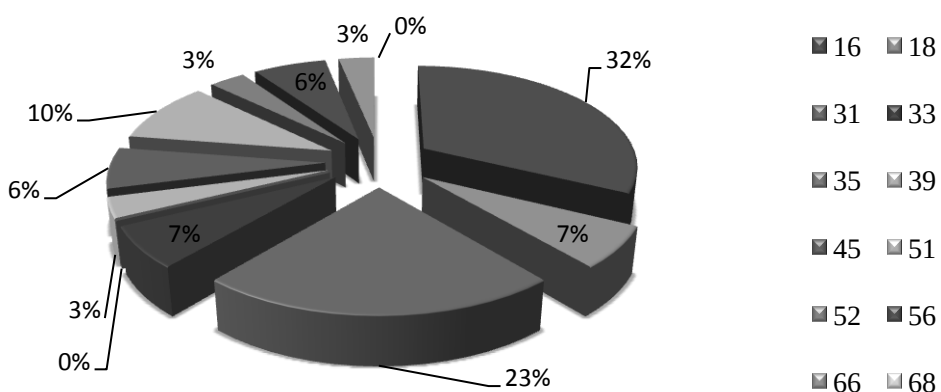


Рис. 5 Кількість різних типів ВПЛ у другій віковій групі.

У третій віковій групі серед всіх типів ВПЛ найчастіше було виділено 56 тип (42,9%). Також були виділені типи ВПЛ 31, 39, 45, 68 (по 14,2%) у даній

віковій групі. Інші типи ВПЛ високого та низького канцерогенного ризику у жінок віком 43-55 років виявлено не було (рис. 6).

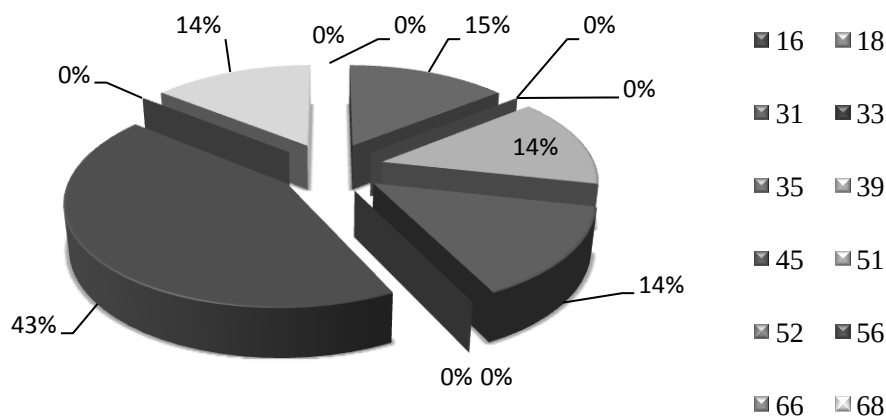


Рис. 6 Співвідношення різних типів ВПЛ у третій віковій групі.

Висновки

Аналіз співвідношення виділених мікроорганізмів та агентів вірусної природи, які призводять до захворювань уrogenітального тракту жінок різних вікових категорій, показав, що серед всіх збудників патологічних станів репродуктивної системи жінок найчастіше виділяються ВПЛ високого канцерогенного ризику, ВПЛ ВКР - 51,4%, *Ureaplasma urealyticum* - 28,2%, *Chlamydia trachomatis* - 7,0%, ВПГ 1 та 2 типів - 4,2%, *Trichomonas vaginalis* - 3,5%, дріжджі роду *Candida spp.* - 2,8%, *Mycoplasma hominis* - 1,4% та ВПЛ низького канцерогенного ризику, ВПЛ НКР - 1,4%.

В різних вікових групах жінок частота виділення патогенних та умовно-патогенних аеробних та анаеробних мікроорганізмів та агентів вірусної природи – збудників захворювань уrogenітального тракту різниться.

Було встановлено, що серед всіх вікових груп в найбільшій кількості збудників було виділено у другій віковій групі (жінки від 26 до 42 років), що у відсотковому значенні відповідає: ВПЛ високого канцерогенного ризику - 42,8%, *Ureaplasma urealyticum* - 32,9%, а також ВПГ 1 та 2 типів - 8,6%, *Trichomonas vaginalis* - 5,7%, *Chlamydia trachomatis* - 4,3%, *Mycoplasma hominis* та дріжджі роду *Candida spp.* - 2,9%.

Така поширеність виділених збудників може бути пов'язана з тим, що дана вікова група представляє собою групу жінок репродуктивного віку у яких відбуваються якісні та кількісні зміни мікрофлори уrogenітального тракту, які пов'язані з родовою діяльністю жінок, а також з вагітністю, соціальними умовами життя, частотою зміною статевих партнерів.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Болдырева М.Н. «Фемофлор» – исследования биоциноза урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени: Методическое пособие для врачей / М. Н. Болдырева. – М., 2010. – 14 с.
- Мавров І.І. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань / І.І. Мавров, Л.С. Тацька, О.П. Белозьоров. - Х.: Факт. – 2000. – 120 с.
- Молочков В.А., Семенова Т.Б. Генитальные вирусные инфекции. – М.: БИНОМ, 2009. – С. 108–172.
- Нікуліна Ю.Ю., І.Є. Соколова, Вінніков А.І. Імунологічні зміни у вагітних із дисбіотичними порушеннями. – Дніпропетровськ: Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. – 2012. – Вип.3, т.1. – С. 85-90.
- Папилломавирусная инфекция урогенитального тракта женщин: информационно-методическое пособие / Е.В. Фоляк, Т.М. Соколова, К.Ю. Макаров, А.В. Якимова, В.Р. Мухамедшина, А.В. Усова. – Новосибирск: Вектор-Бест, 2010. – 88 с.
- Сидорова И.С. Микрофлора половых путей у женщин репродуктивного возраста : учеб.пособие / И.С. Сидорова, Е.И. Боровкова, Н.А. Шешукова. – М.: Практическая медицина, 2007. – 80 с.
- Шейка матки. Цитологический атлас / пер. с англ. Э. Титмуш, К. Адамс // Под ред. Н.И. Кондрикова. – М.: Практическая медицина, 2009. – С. 107–112.
- Baner H., Ting Y., Creer C. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by PCR – based method // JAMA. – 1999. – Vol. 265 – P. 472–477.
- Lie A.K., Skjeldestad F.E., Hagen B. Occurrence of human papillomavirus infection in cervical intraepithelial neoplasia. A retrospective histopathological study of 317 cases treated by laser conization // APMIS. 2005. Oct.; 103(10): 693-8.
- Mehta A. Microbial flora of the vagina / A. Mehta, J. Talwalkar, C. V. Shetty // Microecology and Therapy. -1995. -Vol. 23. - P. 1–7.

REFERENCES

- Boldureva, M. N. (2010). Femoflor - research biotsinoza urogenital tract of women of reproductive age using PCR with the detection result in real time. Moscow.
- Mavrov, I.I., Tatska, L.S., Belozarov, O.P. (2000). Unification of laboratory studies in the diagnosis of diseases. Kharkiv.

- Molochov, V.A., Semenova, T.B. (2009). Genital virus infections. Moscow.
- Nikulina, Y.Y, Sokolova, I.E., Vinnikov, A.I. (2012). Immunological changes in pregnant women with impaired dysbiotic. Bulletin of Dnipropetrovsk University. Series Biology & Medicine. 3(1), 85-90.
- Folyak, E.V., Sokolova, T.M., Makarov, K.Yu., Yakimova, A.V., Mukhamedshina, V.R., Usova, A.V. (2010). Papyllomavyrusnaya urogenital tract infection women: information and metodycheskoe posoby. Novosibirsk.
- Sidorov, Y.S., Borovkova, Ye.I., Sheshukova, N.A. (2007). The microflora of the genital tract of women of reproductive age. Moscow.
- Kondrikova, N.I. (2009). Cervix. Cytological Atlas. Moscow.
- Baner, H. (1999). Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by PCR – based method. JAMA. 265, 472-477.
- Lie, A.K., Skjeldestad, F.E., Hagen, B. (2005). Occurrence of human papillomavirus infection in cervical intraepithelial neoplasia. A retrospective histopathological study of 317 cases treated by laser conization. Apmis. 103(10), 693-8.
- Mehta, A., Talwalkar, J., Shetty, C.V. (1995). Microbial flora of the vagina. Microecology and Therapy. 23, 1-7.

Поступила в редакцію 21.05.2015

**Как цитировать:**

Гончарова, С.Ю., Голодок, Л.П., Хлопова, О.В. (2015). Дослідження мікрофлори урогенітального тракту жінок Дніпропетровської області За допомогою методу полімеразно-ланцюгової реакції. *Биологический вестник Мелитопольского государственного педагогического университета имени Богдана Хмельницкого*, 5 (2), 75-84. **crossref** <http://dx.doi.org/10.7905/bbmsspu.v5i1.977>

© Гончарова, Голодок, Хлопова, 2015

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 3.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/)