



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **83126** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
G01N 33/52 (2006.01)
A61B 10/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2013 03186	(72) Винахідник(и):	Астахов Володимир Михайлович (UA), Ауссі Марван (UA)
(22) Дата подання заявки:	15.03.2013	(73) Власник(и):	ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. ГОРЬКОГО, пр. Ілліча, 16, м. Донецьк, 83003 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	27.08.2013	(74) Представник:	Короткіх Ліна Михайлівна, реєстр. №43
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	27.08.2013, Бюл.№ 16		

(54) СПОСІБ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ РОЗВИТКУ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО ІНФІКУВАННЯ ПЛОДА У ВАГІТНИХ З ПЕРИНАТАЛЬНИМИ ВТРАТАМИ В АНАМНЕЗІ

(57) Реферат:

Спосіб ранньої діагностики розвитку внутрішньоутробного інфікування плода у вагітних з перинатальними втратами в анамнезі шляхом зішкрібання епітеліальних клітин зі слизової оболонки піхви жінки, дослідження зразка зішкрібу й аналізування одержаних результатів. Дослідження одержаного зразка зішкрібу виконують методом полімеразно-ланцюгової реакції із тестовим набором реагентів "Фемофлор" в режимі реального часу, за допомогою яких вимірюють абсолютні показники рівня лактобактерій і рівня умовно патогенного мікроорганізму. Якщо при аналізуванні одержаних результатів значення абсолютного показника рівня лактобактерій нижче за норму, а значення абсолютного показника рівня умовно патогенного мікроорганізму перевищує норму, то діагностують ранній розвиток внутрішньоутробного інфікування плода. Діагностування проводять в терміні 8-10 тижнів гестації. Через 3-4 тижні після проведення патогенетичної терапії виконують контрольне діагностування.

UA 83126 U

Корисна модель належить до медицини, точніше до акушерства, і може бути використана для ранньої діагностики розвитку внутрішньоутробного інфікування плода (ВІП) у вагітних з перинатальними втратами в анамнезі (ПВА).

В умовах погіршення здоров'я населення та зниження народжуваності антенатальна загибель плода є серйозною проблемою сучасної акушерської науки та практики. Як проблема репродуктивної медицини рання діагностика ВІП у вагітних з ПВА має також і соціальне значення в зв'язку з падінням народжуваності в Україні та зниженням показників відтворення населення. Рання діагностика такого порушення дозволяє завчасно почати лікування дисбіозу піхви вагітних, який і є причиною розвитку ВІП, і знизити перинатальні втрати.

Відомий вибраний за прототип спосіб ранньої діагностики розвитку ВІП у вагітних, який включає зішкрібання епітеліальних клітин зі слизової оболонки піхви жінки, посів цих клітин на поживне середовище, мікробіологічне дослідження зразка одержаного зішкрібу, підрахунок кількості мікроорганізмів в 1 мл проби й аналізування одержаних результатів [Назарова Е.К., Гиммельфарб Е.И., Созаева Л.Г. Дисбактериозы влагалища: этиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика. - М., 2000]. Мікробіологічне дослідження піхвових виділень дає загальне уявлення про стан мікрофлори піхви та вагінальної стінки. Діагностика статевих інфекцій і посів дозволяють з'ясувати, за рахунок яких саме збудників відбулося порушення мікрофлори, а також визначити чутливість бактерій до антибіотиків. Без цих аналізів не можна починати антибактеріальну терапію.

Недоліком відомого способу діагностики є низькі чутливість методу та точність діагностики, оскільки патогенні мікроорганізми навіть в незначній кількості в піхві вагітної можуть призвести до розвитку інфекційного процесу та ВІП.

В основу корисної моделі поставлено задачу в способі ранньої діагностики ВІП у вагітних із ПВА шляхом застосування методу кількісної полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) із тестовим набором реагентів "Фемофлор" в режимі реального часу забезпечити кількісну оцінку мікробіоценозу піхви вагітної. Кількісна оцінка мікробіоценозу скорочує термін діагностики з 5-7 діб (прототип) до 2-3 годин, дозволяє вибрати точну, ощадливу та безпечну для організму вагітної антимікробну терапію. Точність ранньої діагностики зростає більш ніж вдвічі, про що свідчить показник перинатальної смертності після призначеної за її результатами патогенетичної терапії: він знижується з 30 % (відомий спосіб-прототип) до 12 %.

Поставлена задача вирішується тим, що створено спосіб ранньої діагностики ВІП у вагітних з ПВА шляхом зішкрібання епітеліальних клітин зі слизової оболонки піхви жінки, дослідження зразка зішкрібу й аналізування одержаних результатів.

Новим у заявленому способі є те, що дослідження одержаного зразка зішкрібу виконують методом ПЛР із тестовим набором реагентів "Фемофлор" в режимі реального часу, за допомогою яких вимірюють абсолютні показники рівня лактобактерій (ЛБ) і рівня умовно патогенного мікроорганізму (УПМ), й якщо при аналізуванні одержаних результатів значення абсолютного показника рівня ЛБ нижче за норму, а значення абсолютного показника рівня УПМ перевищує норму, то діагностують ранній розвиток ВІП, причому діагностування проводять в терміні 8-10 тижнів гестації, а через 3-4 тижні після проведення патогенетичної терапії виконують контрольне діагностування.

Між сукупністю суттєвих ознак корисної моделі й технічним результатом, якого можна досягти при її реалізації, існує причинно-наслідковий зв'язок.

Відомо, що не кожна вагітність, яка настала після ПВА, закінчується народженням живої дитини. Дана категорія жінок складає групу високого ризику щодо розвитку різноманітної акушерської та перинатальної патології, що пов'язано з несприятливим передгравідарним фоном, обтяженим акушерським, гінекологічним та соматичним анамнезом. Вагітні, що мають ПВА, яка відбулась з причини інфікування плода через порушення мікробіоценозу пологових шляхів, складають групу ризику щодо розвитку безпліддя, а також групу ризику щодо розвитку порушення мікробіоценозу піхви під час теперішньої вагітності.

Рання діагностика й своєчасне адекватне лікування захворювань, викликаних порушеннями мікробного середовища піхви у вагітних, що перенесли ПВА, можливі за наявності чітких уявлень про склад нормальної мікрофлори піхви в теперішній вагітності.

Порушення мікробіоценозу піхви є сприятливим фоном для розвитку патогенних бактерій. З нормалізації мікробіоценозу вагітної починають раннє лікування наслідків дисбіозу піхви - розвитку ВІП. Проте ефективність нормалізації мікробіоценозу, її підтримка впродовж усього курсу терапії залежить від точної кількісної діагностики.

За відомим способом-прототипом визначають стан мікробіоценозу піхви за методом мікробіологічного дослідження піхвових виділень. Причиною неточності відомого способу-прототипу є його обмеженість лише якісною оцінкою мікробного середовища піхви у вагітних.

Діагностика розвитку дисбіозу у вагітних, який і є причиною розвитку ВІП, ніколи не може бути здійснена лише за результатами мікробіологічного дослідження піхвових виділень. Піхвовий зішкріб дає уявлення про ступінь порушення та про виразність запального процесу, але він ніяк не може бути єдиним діагностичним методом. Грамотно складений курс лікування не може базуватися лише на мікробіологічному дослідженні. Крім того, через тривалість дослідження в 5-7 діб відомий спосіб не дозволяє своєчасно діагностувати ВІП. Тому його часто використовують лише для контролю правильності емпіричного призначення антибактеріальної терапії.

Діагностика мікробіоценозу шляхом мікробіологічного дослідження піхвових виділень за відомим способом-прототипом є якісна, а не кількісна і тому - малоінформативною у зв'язку з тим, що УПМ можуть бути присутніми як при патологічних станах (у значних кількостях), так і в нормі (в обмеженій кількості). Таким чином, визначення УПМ за методом якісного мікробіологічного дослідження може призводити до призначення невиправданого та надлишкового лікування вагітної.

Спосіб, що заявляється, використовує принципово новий підхід до дослідження мікрофлори піхви вагітної, заснований на комплексній оцінці груп мікроорганізмів, які формують генітальний дисбіоз, - метод кількісної ПЛР в режимі реального часу. Дисбіотичні процеси характеризуються порушенням кількісних співвідношень нормофлори та УПМ за умови великого видового розмаїття останньої. Успіх лікування порушення мікробіоценозу залежить від правильності вибраної терапії для кожної конкретної пацієнтки, що неможливо без кількісної оцінки УПМ й її співвідношення з кількістю нормальної флори. Не менш важлива точна кількісна корекція мікробіоценозу в процесі лікування дисбіозу. Для цього необхідний точний своєчасний контроль в режимі реального часу. На даний момент це може забезпечити лише діагностична система ПЛР із тестовим набором реагентів "Фемофлор" (виробник НПО "ДНК-Технологія", Росія). Застосовувана за способом, що заявляється, система ПЛР із "Фемофлор" дозволяє проводити етіологічно спрямовану терапію, мінімізувати лікарський вплив, уникати поліпрагмазії, проводити динамічні спостереження, моніторинг ефективності лікування, скоротити термін санації.

Суттєвою ознакою заявленого діагностичного способу є вибір критерію визначення порушення мікробіоценозу у вагітної. ЛБ домінують в піхві здорової дорослої жінки. Їх кількість є основним критерієм при діагностиці дисбіозу у дорослої жінки [А.А. Евсеев. Вагинальный дисбиоз и методы его коррекции / Росс. вестник акуш.-гинеколога.-2007. - № 4. - С. 65-69]. Тому критерієм визначення порушення мікробіоценозу у вагітної є порівняння значень абсолютних показників рівня ЛБ і рівня УПМ. Дослідним шляхом доведено, що в разі одержання значення абсолютного показника рівня ЛБ, нижчого за норму, а значення абсолютного показника рівня УПМ, вищого за норму, діагностують ранній розвиток ВІП у вагітної з ПВА.

Ще однією суттєвою ознакою заявленого способу є термін проведення діагностування, а саме: 8-10 тижнів гестації та через 3-4 тижні після проведення патогенетичної терапії.

Як показали клінічні дослідження, саме термін в 8-10 тижнів є оптимальним, оскільки проведення діагностики у більш ранній, ніж 8 тижнів гестації, є малоінформативним. А проведення діагностики в пізніший, ніж 10 тижнів, термін може бути запізно, оскільки в цей період може початись активний процес ВІП. За результатами клінічних досліджень рання діагностика може бути проведена з найбільшою точністю й інформативністю в період 3-4 тижні після проведеної патогенетичної терапії.

Ефективність ранньої діагностики ВІП у вагітних з ПВА за заявленим способом доведено шляхом клінічних досліджень. В гінекологічній клініці були проведені дослідження мікробіоценозу піхви у 60 вагітних з ПВА, що перебували в строку гестації 8-10 тижнів. Вагітні були розподілені на дві групи: основну та групу порівняння, кожна з яких включала по 30 вагітних. Групи були репрезентативні за віком, відсутністю трихомоніазу, гонореї, сифілісу, ВІЛ, гепатиту В та С, ендокринних захворювань. Основну групу діагностували за способом, що заявляється, а групу порівняння - за відомим способом-прототипом.

Ранню діагностику в основній групі проводили в 8-10 тижнів гестації, а після проведеної патогенетичної терапії виявленого дисбіозу - через 3-4 тижні. Порівняльний аналіз положів в основній групі вагітних та в групі порівняння показав, що пологи з живим новонародженим відбулись відповідно у 26 (86,7 %) і 21 (70,0 %) вагітної пацієнтки з ПАВ. Причиною смерті малюків в основній групі були: внутрішньоутробна пневмонія (2) та внутрішньоутробний сепсис (2).

Правильність вибраних критеріїв для ранньої діагностики ВІП на підставі вивчення кількісного вмісту ЛБ й УПМ у зішкрібі зі слизової оболонки піхви вагітної при застосуванні ПЛР із тестовим набором реагентів "Фемофлор" в режимі реального часу підтверджується

ефективністю проведеної патогенетичної терапії, при якій відбувається достовірна зміна якісного складу мікрофлори піхви, що відображає динаміку й ефективність проведеної терапії.

Таким чином, запропонований спосіб ранньої діагностики розвитку ВІП у вагітних з ПАВ дозволяє досягти високої точності верифікації спектра мікрофлори в кожному конкретному випадку, значного скорочення терміну одержання результатів, підвищення точності діагностики з 70 % (прототип) до 86,7 %. Своєчасний кількісний та якісний моніторинг стану мікробіоценозу статевих шляхів вагітної дозволяє на ранніх стадіях діагностувати розвиток ВІП, диференційовано вибрати етіотропну терапію для нормалізації мікробіоценозу піхви та знизити перинатальну смертність.

Спосіб діагностики, що заявляється, здійснюють таким чином.

Ранню діагностику ВІП у вагітної з ПАВ проводять в 8-10 тижнів гестації. Матеріалом для дослідження є зішкріб епітеліальних клітин, який забирають одноразовими стерильними інструментами типу "Cytobrush" із заднього склепіння піхви. Зішкріб епітеліальних клітин зі слизової оболонки піхви вагітної аналізують на наявність і кількість ЛБ і УПМ. Дослідження спектру вагінальної мікробіоти проводять за допомогою комплексної кількісної ПЛР з використанням тест-систем "Фемофлор-16" (виробник НПО "ДНК-Технологія", РФ). Результати мікробіологічного дослідження оцінюють за референсними нормами для тест-системи "Фемофлор" в режимі реального часу за відомою методикою [Метод діагностики бактеріального вагінозу за допомогою комплексної кількісної полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу / Методичні рекомендації // Чайка А.В., Носенко О.М., Остапенко О.І. та ін. - Київ, 2010.-35 с.]. Якщо при аналізуванні одержаних результатів значення абсолютного показника рівня ЛБ у піхвовому зішкрібі нижче за норму ($N=10^6-10^8$), а значення абсолютного показника рівня УПМ перевищує норму ($N<10^4$ для мікоплазматичних, уреоплазматичних, аеробних й анаеробних УПМ; $N<10^3$ для грибів роду *Candida*), то діагностують ранній розвиток ВІП. Після проведення патогенетичної терапії виявленого дисбіозу контрольне діагностування виконують через 3-4 тижні після лікування.

Наводимо конкретний приклад реалізації способу ранньої діагностики ВІП у вагітних з ПАВ, що заявляється.

Приклад

Вагітна К., 29 років, звернулась до акушерської клініки у терміні гестації 8-9 тижнів для постановки на диспансерне акушерське спостереження. Вагітна К. в анамнезі має одну перинатальну загибель плода через внутрішньоутробну пневмонію. У зв'язку із ПАВ вагітній К. в клініці провели ранню діагностику ВІП у 8-9 тижнів гестації. Із заднього склепіння піхви вагітної К. взяли зішкріб епітеліальних клітин одноразовими стерильними інструментами типу "Cytobrush". Зразок зішкрібу епітеліальних клітин зі слизової оболонки піхви вагітної дослідили на наявність і кількість ЛБ та УПМ. Дослідження спектру вагінальної мікробіоти провели за допомогою комплексної кількісної ПЛР з використанням тест-систем "Фемофлор-16". Результати мікробіологічного дослідження оцінили за референсними нормами для тест-системи "Фемофлор" в режимі реального часу. Одержані результати: значення абсолютного показника рівня ЛБ у піхвовому зішкрібі відповідали 10^5 , що є нижчим за норму ($N=10^6-10^8$), а значення абсолютних показників рівня УПМ перевищувало норму: уреоплазма 10^5 ($N<10^4$), гриби роду *Candida* 10^4 ($N<10^3$). У вагітної К. діагностували дисбіоз і ранній розвиток ВІП. Через 3 тижні після проведення патогенетичної терапії виявленого дисбіозу виконали контрольне діагностування ВІП за способом, що заявляється, та одержали результати: значення абсолютного показника рівня ЛБ у піхвовому зішкрібі складало 10^6 , а значення абсолютних показників рівня уреоплазми - 10^3 , грибів роду *Candida*- 10^2 , що відповідало нормі. У подальшому вагітність пацієнтки К. перебігала без ускладнень. Вона в строк народила здорову дитину з масою тіла 3200 г й оцінкою за шкалою Апгар 7-8 балів. На третю добу роділлю з малюком виписали з пологового будинку додому.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб ранньої діагностики розвитку внутрішньоутробного інфікування плода у вагітних з перинатальними втратами в анамнезі шляхом зішкрібання епітеліальних клітин зі слизової оболонки піхви жінки, дослідження зразка зішкрібу й аналізування одержаних результатів, який **відрізняється** тим, що дослідження одержаного зразка зішкрібу виконують методом полімеразно-ланцюгової реакції із тестовим набором реагентів "Фемофлор" в режимі реального часу, за допомогою яких вимірюють абсолютні показники рівня лактобактерій і рівня умовно патогенного мікроорганізму, й якщо при аналізуванні одержаних результатів значення абсолютного показника рівня лактобактерій нижче за норму, а значення абсолютного показника

рівня умовно патогенного мікроорганізму перевищує норму, то діагностують ранній розвиток внутрішньоутробного інфікування плода, причому діагностування проводять в терміні 8-10 тижнів гестації, а через 3-4 тижні після проведення патогенетичної терапії виконують контрольне діагностування.

5

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601