

Н.В. Хороших¹, Ю.Ю. Мадыкин¹, В.О. Миттова¹, А.А. Соловьёва²
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЭМПИРИЧЕСКОГО ПОДБОРА
ФАРМАКОТЕРАПИИ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ВЛАГАЛИЩНОГО
БИОЦЕНОЗА С ПОМОЩЬЮ pH-МЕТРИИ ВЫДЕЛЕНИЙ

¹ ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н. Н. Бурденко Минздрава России,
каф. акушерства и гинекологии № 2, каф. онкологии и специализированных хирургических
дисциплин ИДПО, каф. биохимии;

² ФГБОУ ВО ВГУ, каф. материаловедения и индустрии наносистем

Резюме. Несмотря на значительное количество методов для диагностики степени нарушения влагалищной микробиоты и подбора оптимальной фармакотерапии, применение этих методов достаточно ограничено. Ограниченность использования обусловлена проблематичностью использования в массовом масштабе методов диагностики, не включенных в стандарты ОМС, а также тем фактом, что для многих групп пациенток достаточно применения скрининговых методик. Базовой скрининговой методикой является pH-метрия. Эффективность данного метода определяется использованием индикатора, реагирующего на изменение pH в необходимом диапазоне. Статья посвящена возможности использования индикатора метилового красного для оптимизации подбора фармакотерапии у женщин с нарушением биоценоза влагалища. Предложены методика приготовления раствора индикатора для использования в качестве экспресс-диагностикума.

Ключевые слова: метиловый красный, фармакотерапия, влагалищная микробиота, pH, экспресс-диагностика.

Актуальность. В настоящее время разработано множество возможностей для диагностики степени нарушения влагалищной микробиоты и подбора оптимальной фармакотерапии [2, 6]. Однако имеется целый ряд ограничений для применения этих методик. Во-первых, в условиях современного российского здравоохранения проблематично использовать в массовом масштабе методы диагностики, не включенные в стандарты ОМС, а значит, не оплачиваемые страховой медициной. Во-вторых, существует целый ряд клинических ситуаций, когда такое углубленное обследование, направленное на идентификацию возбудителя, не требуется. К числу последних относится обследование женщин в позднем репродуктивном, перименопаузальном и менопаузальном периодах, а также женщин более молодого возраста, не планирующих беременность и роды. Этим пациенткам для назначения эмпирической фармакотерапии достаточно применения скрининговых методик [5,7, 9].

В последнее время для проведения экспресс-диагностики перед назначением эмпирической фармакотерапии все большую популярность приобретают методы, основанные на определении pH влагалищных выделений [2, 6].

Нормальный pH влагалища – величина постоянная, колеблется в пределах 3.8 - 4.6и определяется особенностями влагалищной микрофлоры. Нормальная микробиота представлена в основном лактобациллами (концентрация их – не менее 10⁷), вырабатывающими молочную кислоту, которая и создает кислую среду. Если количество лактобацилл повышается, то кислотность выделений также усиливается, формируется так называемый цитолитический тип среды. В большинстве случаев при развитии патологической микрофлоры кислотность влагалища уменьшается, вплоть до развития нейтральной или даже щелочной среды. Так проявляют себя грибы рода

Candida, трихомонады, гарднереллы, неспецифические аэробы и анаэробы. Для каждого из этих возбудителей характерен свой уровень повышения рН влагалища. Таким образом, точно измерив кислотность влагалищных выделений, можно ориентировочно определить характер изменений влагалищной микробиоты и назначить соответствующую фармакотерапию. Кроме того, хочется подчеркнуть, что даже у пациенток, активно использующих современные диагностические возможности для постановки диагноза, рН-метрия часто используется как промежуточный этап контроля качества лечения. На фоне лечения по мере восстановления микрофлоры кислотность влагалища постепенно нормализуется. Определение рН на уровне 4,0-4,4 в течение 4-х недель после окончания лечения – маркер восстановления влагалищного биоценоза [1,3]

рН-метрия является общедоступным, простым в использовании методом, для ее проведения не требуется специального оборудования, ее можно проводить в кабинете акушера-гинеколога с выделениями, взятыми на поверхность влагалищного зеркала или на предметном стекле. Также хочется подчеркнуть низкую себестоимость этого метода.

Основным фактором, определяющим эффективность рН-метрии, является качественный индикатор. Он должен быть высокочувствительным, реагировать на незначительные изменения рН среды. Кроме того, в случае непосредственного контакта с телом пациентки индикатор должен быть нетоксичным и гипоаллергенным [4]. Поэтому совершенствование методик экспресс-диагностики заболеваний нижнего отдела репродуктивного тракта женщины в настоящее время направлено, в основном, на поиск индикатора, удовлетворяющего вышеназванным условиям.

Материал и методы исследования. В работе были использованы следующие реактивы: метиловый красный (ч.д.а.); этиловый спирт – 95% (х.ч.); глицерин (ч.д.а.), буферные растворы: стандарт-титры для приготовления буферных растворов – рабочих эталонов рН 3-го разряда СТ-рН-04.3. (состав фиксаналов приведён в [8]). В соответствии с ГОСТ 4919.1-77 «Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления растворов индикаторов» был приготовлен индикатор сравнения (эталон) по следующей методике: 0,01 г метилового краснорастворяли в 10 мл этилового спирта. В связи с тем, что предварительные эксперименты продемонстрировали, что метиловый красный не растворим в глицерине, методика приготовления экспериментального раствора была изменена следующим образом: 0,05 г метилового красного растворяли в 2 мл этилового спирта, затем доводили глицерином до общего объема 10 мл;

Далее было взято 0,5 мл (10 капель) индикатора (эталон), в которые постепенно добавлялись растворы с рН=4,01, 5,0 и 6,86 до изменения окраски индикатора. Аналогичные эксперименты были проведены с экспериментальным раствором индикатора.

Полученные результаты и их обсуждение. В работе исследовали возможность приготовления раствора метилового красного в глицерине и изменение окраски индикатора в этом растворе при различных рН. Метиловый красный (метилрот,

диметил аминазо бензолкарбоновая кислота) – основной кислотно-щелочной индикатор сточкой переходом рН_{4,2} -6,3; в кислой среде - красный, в щелочной – желтый [10]. Проба с метиловым красным широко применяется в бактериологии для дифференциации некоторых видов энтеробактерий. При приготовлении раствора индикатора в соответствии с ГОСТ 4919.1-77 (эталон) наблюдалось хорошее растворение индикатора, полученный раствор имел оранжевый цвет. При приготовлении раствора индикатора в этиловом спирте (2 мл) и последующем доведении раствора глицерином до 10 мл цвет раствора был малиново-красным.

В первом эксперименте к 10 каплям индикатора (эталон) постепенно добавлялись растворы с рН=4,01, 5; и 6,86 до изменения окраски индикатора. Уже при добавлении 2 капель раствора с рН=4.01 окраска раствора менялась на ярко-красную, последующее увеличение объема добавляемого раствора приводило к появлению малиновой окраски. При добавлении 5 капель раствора с рН=5 окраска раствора становилась оранжевой и не менялась при дальнейшем увеличении объема добавляемого раствора. При добавлении уже 5 капель буферного раствора с рН=6,86 цвет индикатора резко изменялся с оранжевого на желтый, а при дальнейшем добавлении буферного раствора с рН=6,86 цвет становился светло-желтым.

В дальнейших экспериментах к 5 каплям экспериментального раствора индикатора добавляли растворы с различным рН до изменения окраски индикатора. Также проводилось сравнение окраски экспериментального раствора индикатора, с эталоном сравнения. Для экспериментального раствора индикатора добавление 10 капель раствора с рН=4.01 изменяло окраску на ярко-малиновую, дальнейшее добавление раствора с рН=4.01 приводило к появлению светло-малиновой окраски, вызванной разбавлением раствора. При добавлении 5 капель раствора с рН=5 окраска раствора становилась насыщенно оранжевой, при дальнейшем увеличении объема добавляемого раствора оранжевый цвет становился менее интенсивным. Изменение цвета при добавлении буферного раствора с рН=6,86 появлялось уже после добавления двух капель раствора – цвет становился оранжево-желтым. При дальнейшем добавлении раствора с рН=6,86 цвет раствора оставался оранжево-желтым и лишь становился светлее вследствие разбавления. Полученные растворы имели идентичную окраску при добавлении 30 капель раствора с рН=6,86 к эталонному индикатору и раствору индикатора в глицерине.

Выводы. Для эмпирического подбора фармакотерапии и промежуточного контроля качества лечения нарушений биоценоза влагалища может быть использован метод рН-метрии влагалищных выделений с чувствительным индикатором.

Метиловый красный является в целом подходящим индикатором для динамического контроля за изменением рН влагалищных выделений.

Метиловый красный, растворенный в спирте с последующим доведением раствора глицерином, достаточно чувствителен к изменению рН.

Достаточная чувствительность раствора метилового красного в требуемом интервале рН позволяет рекомендовать индикатор для дальнейших исследований.

Литература.

1. O'Hanlon D. E., Vaginal pH measured in vivo: lactobacilli determine pH and lactic acid concentration/ D.E. O'Hanlon, R.A. Come, T.R. Moench //BMC Microbiology. – 2019. - Vol. 19. – P. 13-24.
2. Акушерство и гинекология. Дифференциальная диагностика от А до Я: пер. с англ./ под ред. Н.М.Подзолковой.– Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 400 с.
3. Гинекология. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. Г.М. Савельева, Г. Т. Сухих, И. Б. Манухина. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017.- 704 с.
4. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). Решение Комиссии Таможенного союза от -28.05.2010 № 299. -URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/10sr0299> (дата обращения 24.02.2019)
5. Совершенствованные подходы в лечении осложненного бактериального вагиноза и вульвовагинального кандидоза / А.Н. Стрижаков [и др.]//Акушерство и гинекология. – 2018.- N 12.-С.142-148.
6. Ranjit E., Prevalence of bacterial vaginosis and its association with risk factors among nonpregnant women: a hospital based study / E. Ranjit [et al.] //International Journal of Microbiology. – 2018. - ID 8349601 (дата обращения 20.02.2019).
7. Рациональная фармакотерапия в акушерстве, гинекологии и неонатологии: руководство для практикующих врачей. /од общ. ред. В. Н. Серова, Г. Т. Сухих. - 2-е изд., Москва : Литтерра, 2014. - 736 с.
8. Шефер К. Лекарственная терапия в период беременности и лактации /под ред. К. Шефер, Х. Шпильманн, К. Феттер. – Москва : Логосфера, 2010. -768 с.
9. Sabnis R.W. Handbook of Acid-Base Indicators /R.W. Sabnis. – New York: CRC Press, 2007. -416 p.

Abstract.

Khoroshikh N. V.¹, Madykin Yu. Yu.¹, Mittova V. O.¹, Soloveva A. A.²
USE OF METHOD OF EMPIRICAL SELECTION OF PHARMACOTHERAPY
IN CASE OF VAGINAL BIOCEANOSIS DISORDERS WITH THE HELP
OF PH-MEASUREMENT OF EXCRETIONS

¹*Voronezh State Medical University, Dep. of Obstetrics and Gynecology № 2, Dep. of Oncology and Specialized Surgical Disciplines, Dep. of Biochemistry;*

²*Voronezh State University, Dep. of Materials Science and the Industry of Nanosystems*

Despite the significant number of methods for diagnosing the degree of violation of the vaginal microbiota and the selection of optimal pharmacotherapy, the use of these methods is rather limited. The limited use is due to the problematic use on a massive scale of diagnostic methods that are not included in the compulsory medical insurance standards, as well as the fact that for many groups of patients it is enough to use screening techniques. The basic screening method is monitoring of pH. The effectiveness of this method is determined by the use of an indicator that responds to changes in pH at the required intervals. The article is devoted to the possibility of using the methyl red indicator for optimization of the selection of pharmacotherapy in women with impaired vaginal biocenosis. The method of preparation of the indicator solution for use as an express diagnosticum was proposed.

Keywords: methyl red, pharmacotherapy, vaginal microbiota, pH, rapid diagnosis.

References.

1. O'Hanlon D. E., Vaginal pH measured in vivo: lactobacilli determine pH and lactic acid concentration/ D.E. O'Hanlon, R.A. Come, T.R. Moench //BMC Microbiology. – 2019. - Vol. 19. – P. 13-24.
2. Obstetrics and gynecology. Differential diagnostics from A to I: p. N.M.Podzolo.- Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 400 p.
3. Gynecology. National leadership. Short edition/ed. G.M. Saveleva, G. T. Dry, I. B. Manuhina. - Moscow: GEOTAR-Media, 2017.- 704 p.
4. Uniform sanitary-epidemiological and hygienic requirements for goods subject to sanitary-epidemiological supervision (control). Customs Commission Resolution -28.05.2010 № 299. -URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/10sr0299> (date of appeal 24.02.2019)

5. Improved approaches in the treatment of complicated bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis/A.N. Strigakov [et al.]/Obstetrics and gynecology. - 2018.-N 12.-С.142-148.
6. RanjitE., Prevalence of bacterial vaginosis and its association with risk factors among nonpregnant women: a hospital based stud / E. Ranjit [et al.] //International Journal of Microbiology. – 2018. - ID 8349601 (дата обращения 20.02.2019).
7. Rational pharmacotherapy in obstetrics, gynecology and neonatology: manual for practicing doctors./ed. V. N. Serova, G. T. Dry. - 2nd ed., Moscow: Litterra, 2014. - 736 p.
8. Schafer K. Drug therapy during pregnancy and lactation/under ed. K. Schafer, H. Schpilmann, K. Fetter. - Moscow: Logosphere, 2010. -768 p.
9. Sabnis R.W. HandbookofAcid-BaseIndicators /R.W. Sabnis. – NewYork: CRCPress,2007. -416 p.

Сведения об авторах: Хороших Наталия Владимировна – к.м.н. доцент каф. акушерства и гинекологии №2 ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, nvh.vrn2011@yandex.ru; Мадыкин Юрий Юрьевич – к.м.н. доцент кафедры онкологии и специализированных хирургических дисциплин каф. онкологии и специализированных хирургических дисциплин ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, madykin@mail.ru; Миттова Валентина Олеговна – к.б.н., ассистент кафедры биохимии ВГМУ им. Н.Н. Бурденко vmittova@mail.ru; Соловьёва Анна Алексеевна – инженер II категории кафедры материаловедения и индустрии наносистем Воронежского государственного университета, annasolo1990@mail.ru.

Цитировать:

Использование метода эмпирического подбора фармакотерапии при нарушениях влагалищного биоценоза с помощью pH-метрии выделений / Н. В. Хороших, Ю. Ю. Мадыкин, В. О. Миттова, А. А. Соловьёва // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2019. – Т. 22, № 3. – С. 90–94.