

© СЕМЕНОВ Д.М., 2016

## D-ЛАКТАТ КАК МАРКЕР ДИСБИОТИЧЕСКИХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НИЖНЕГО ОТДЕЛА ПОЛОВЫХ ПУТЕЙ У ЖЕНЩИН

СЕМЕНОВ Д.М.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г.Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2016. – Том 15, №4. – С. 40-45.

## D-LACTATE AS A MARKER OF DYSBIOTIC AND INFLAMMATORY DISEASES OF THE LOWER GENITAL TRACT IN WOMEN

SEMENOV D.M.

Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University», Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2016;15(4):40-45.

---

### Резюме.

Цель – оценить возможность исследования D-лактата в диагностике и оценке эффективности терапии при воспалительных и дисбиотических состояниях нижнего отдела половых путей.

Материал и методы. Проведено исследование концентрации D-лактата в материале из влагалища у 26 женщин с бактериальным вагинозом, 21 женщины с неспецифическим вагинитом, 23 женщин с нормальным биоценозом влагалища.

Результаты. Этиологическая составляющая воспаления нижнего отдела половых путей (вагинита) у женщин репродуктивного возраста в большинстве случаев представлена неспецифической бактериальной флорой: *Ent. faecalis* (38% от общего числа случаев положительных посевов), *St. epidermidis* (31,7%), *Str. haemolyticus* (19%), *U. Urealyticum* (11,3%). Медиана концентрации D-лактата в материале, полученном из заднего свода влагалища у женщин без признаков воспаления и нормальным микробиоценозом, составляет 24,8 (22,6; 31,2) мкмоль/(л×г). Медиана концентрации D-лактата у пациенток с диагностированным воспалением влагалища и нарушением микробиоценоза (бактериальный вагиноз), вне зависимости от бактериального агента, обуславливавшего воспалительный процесс, статистически значимо ниже ( $p=0,0001$ ) и составляет 14,1 (11,6; 14,7) мкмоль/(л×г). Значение D-лактата 18,14 мкмоль/(л×г) является точкой диагностического разделения патологического процесса и нормального микробиоценоза, чувствительность и специфичность при этом составляют 98,4% и 98,1% соответственно. Высокая чувствительность и специфичность теста на определение уровня D-лактата в материале, полученном из сводов влагалища, позволяет использовать его в качестве универсального критерия наличия воспаления бактериальной этиологии и состояния экосистемы влагалища.

**Ключевые слова:** бактериальный вагиноз, вагинит, D-лактат.

### Abstract.

**Objectives.** To evaluate the possibility of D-lactate investigation in the diagnosing and assessment of treatment efficacy in case of inflammatory and dysbiotic states of the lower genital tract.

**Material and methods.** D-lactate concentration has been studied in the material taken from the vagina in 26 women with bacterial vaginosis, 21 women with nonspecific vaginitis, 23 women with normal vaginal biocenosis.

**Results.** The etiologic component of the lower genital tract inflammation (vaginitis) in women of the reproductive age in the majority of cases is represented by a nonspecific bacterial flora: *Ent. faecalis* (38% of the total number of cases of positive cultures), *St. epidermidis* (31,7%), *Str. haemolyticus* (19%), *U. Urealyticum* (11,3%). The median of D-lactate concentration in the material obtained from the posterior vaginal vault in women without any signs of inflammation and with normal microbiocenosis is 24,8 (22,6; 31,2)  $\mu\text{mol} / (\text{l} \times \text{g})$ . The median of D-lactate concentration in female patients with the diagnosed vaginal inflammation and bacterial vaginosis, regardless of

the bacterial agent causing the inflammatory process, is statistically significantly lower ( $p=0,0001$ ) and makes up 14,1 (11,6; 14,7)  $\mu\text{mol} / (1 \times \text{g})$ . The value of D-lactate amounting to 18,14  $\mu\text{mol} / (1 \times \text{g})$  is the point of the diagnostic division of the pathological process and normal microbiocenosis, sensitivity and specificity being 98,4% and 98,1%, respectively. High sensitivity and specificity of the test for determining the level of D-lactate in the material obtained from the vaginal vaults enable its usage as a universal criterion of the presence of an inflammation of the bacterial etiology and the state of the vaginal ecosystem.

*Key words: bacterial vaginosis, vaginitis, D-lactate.*

Дисбиотические процессы и воспалительные заболевания нижних отделов половых путей относятся к разряду наиболее распространенных патологических состояний в гинекологической практике, среди амбулаторных пациентов их доля составляет порядка 55-60% [1].

Наиболее часто встречаются три основные формы заболевания (неспецифический кольпит, бактериальный вагиноз, вагинальный кандидоз), общим для которых является наличие дисбиотических нарушений, создающих оптимальные условия для резкого увеличения условно патогенной флоры, которая и становится основным патогенным фактором в их развитии [2, 3].

Высокая частота дисбиотических и неспецифических воспалительных процессов нижнего отдела половых путей связана с действием многочисленных экзогенных и эндогенных факторов. Значимое влияние на состояние экосистемы влагалища может оказывать прием антибактериальных лекарственных средств, контрацептивное поведение, неправильная интимная гигиена, гинекологические манипуляции, ионизирующее излучение, стресс, частая смена климатических зон, изменения гормонального статуса (беременность, роды, дисменорея, лактация), наличие эндокринопатий (сахарный диабет, гипотиреоз, ожирение), фоновые состояния шейки матки, несостоятельность мышц тазового дна, иммунологические нарушения, сопутствующая патология желудочно-кишечного тракта [3]. Персистирующие дисбиотические и воспалительные процессы влагалища способствуют инфицированию матки и маточных труб, нарушая адекватное функционирование верхних отделов репродуктивного тракта и определяют широкий спектр патологических состояний репродуктивной системы (воспалительные заболевания органов таза, бесплодие) [4].

Общепринятые бактериоскопические

и бактериологические методы диагностики воспалительных и дисбиотических состояний нижнего отдела половых путей не в полном объеме удовлетворяют потребности клинической практики за счет не всегда удовлетворительной чувствительности и специфичности. Чувствительность бактериоскопического метода оценивается порядка 52-58% [5]. Это связано с достаточно малым количеством материала, подвергающегося исследованию, погрешностями при подготовке материала и некотором субъективизме оценки данных, связанном с квалификацией исследователя. Недостатками культурального метода является: специфичность к среде и трудоемкость культивирования, длительность выполнения метода и соответственно сложность ретроспективной трактовки полученных результатов [6]. Недостаточно эффективный диагностический алгоритм затрудняет проведение своевременного адекватного лечения дисбиотических и воспалительных состояний влагалища.

Рассматривая воспалительные и дисбиотические процессы нижнего отдела половых путей с позиции изменения состояния экосистемы влагалища, необходимо отметить, что как нормальное, так и патологическое состояние влагалищного биотопа обусловлено способностью микроорганизмов развиваться во влагалище и конкурировать между собой за среду обитания. Эволюционно наиболее приспособленными к колонизации влагалища и обеспечению его защиты от условно-патогенной флоры оказались лактобациллы. Чаще всего эти микроорганизмы представлены *L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*. Кроме лактобацилл, во влагалищной экосистеме существуют и бифидобактерии, как правило, это *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*. И те, и другие обладают способностью активной адгезии к эпителию влагалища, ферментируют гликоген, способствуя образованию органических кислот, в частности молочной кислоты и пере-

киси водорода, вырабатывают естественные антисептики (лизозим), нормализуют локальный иммунитет [7].

Человеческий метаболизм может производить только L-лактат, в то время как бактерии могут производить D-лактат и L-лактат. D-лактат – правовращающий изомер молочной кислоты. D-лактат является специфическим маркером наличия бактерий, а стабильный микробиоценоз характеризуется достаточно постоянным уровнем D-лактата в субстрате [8]. В настоящее время использование D-лактата при хирургической патологии хорошо известно, но большинство исследований отражает определение его концентрации в сыворотке крови [9]. Установлено, что определение концентрации D-лактата в асцитической, плевральной, цереброспинальной и синовиальной жидкостях может служить высокоспецифичным и чувствительным методом для ранней диагностики бактериальной инфекции [10]. Наличие D-лактата в стерильных жидкостях организма указывает на наличие локальной бактериальной инфекции, содержащей высокую плотность бактерий [11].

Перспективным методом экспресс диагностики состояния микробиоценоза влагалища является исследование концентрации D-лактата во влагалищном субстрате как маркера состояния и стабильности экосистемы влагалища. До настоящего времени недостаточная чувствительность и относительная высокая стоимость методик определения уровня D-лактата ограничивали применение данного метода исследования. В доступной литературе имеются лишь единичные исследования уровня D-лактата в биологическом материале со слизистых оболочек влагалища. Несмотря на несовершенство используемых методик, группа исследователей (Garg KB, Ganguli I, Kriplani A, Lohiya NK, Thulkar J, Talwar GP) в 2010 г. установила относительно стабильный уровень D-лактата в биологическом материале со слизистых оболочек влагалища среди здоровых женщин и отличный от нормы более низкий средний уровень D-лактата среди женщин, страдающих бактериальным вагинозом [12]. В настоящее время сотрудниками УО «ВГМУ» разработана тест-система «D-лакта́м», основанная на доступной спектрофотометрической методике количественной оценки концентрации D-лактата. Возможность использования

новых альтернативных методов диагностики состояния экосистемы влагалища, несомненно повысит эффективность диагностики дисбиотических и воспалительных заболеваний.

Цель работы – оценить возможность исследования D-лактата в диагностике и оценке эффективности терапии при воспалительных и дисбиотических состояниях нижнего отдела половых путей.

## Материал и методы

Исследования проводились на базе клиники УО «Витебского государственного медицинского университета» и женской консультации УЗ «Витебский городской клинический родильный дом № 2». Клинико-лабораторное исследование проводилось согласно клиническим протоколам динамического наблюдения при физиологически протекающей беременности, ведения физиологических родов, диагностики и лечения болезней беременных, рожениц, родильниц, гинекологических болезней (Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 09.10.2012 г. № 1182) и включало гинекологический осмотр, цитологическое, бактериоскопическое и бактериологическое исследования, а также определение концентрации D-лактата в материале полученном из сводов влагалища.

Обследовано 70 женщин фертильного возраста (18-45 лет), среди которых выявлено 26 пациенток с бактериальным вагинозом, 21 – с неспецифическим вагинитом, 23 – с нормальным биоценозом влагалища.

Исследование уровня D-лактата производилось с использованием тест-системы D-лакта́м (ТУ BY 391360704.001–2014), основанной на ферментативной конверсии D-лактата в пируват с последующим превращением последнего в интенсивно окрашенный хромоген, имеющего максимум поглощения в ближней ультрафиолетовой области (фильтр 340 нм) и предназначенной для определения уровня D-лактата биологических субстратов.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0, MedCalc 10.2.0.0, Microsoft Excel 2007. Для обработки статистических данных использовались методы непараметрической статистики. Количественные данные представлены в виде медианы (Me)

с интерквартильным размахом (25%; 75%). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости  $p$  принимали равным 0,05. Достоверность выявляемых различий средних значений сравниваемого признака в двух независимых выборках оценивали по U-критерию значимости Манна-Уитни. Достоверность выявляемых различий средних значений сравниваемого признака в нескольких независимых выборках оценивали по критерию Крускала-Уоллеса. Согласно рекомендациям В.В. Власова (2001), основанным на доказательной медицине, анализ диагностической эффективности методов дифференциальной диагностики состоял из следующих статистических процедур: определение чувствительности (Se) и специфичности (Sp); построение характеристической кривой (ROC-кривая), отражающей взаимозависимость вероятностей ложноположительных и истинно положительных результатов; определение расположения ROC-кривой, а также площади под ней (SROC) как интегрального индекса эффективности [13].

## Результаты и обсуждение

При исследовании уровня D-лактата установлено, что медиана концентрации D-лактата в материале, полученном из заднего свода влагалища у женщин без признаков воспаления и нормальным микробиоценозом, составляла 24,8 (22,6; 31,2) мкмоль/(л×г).

Медиана концентрации D-лактата у пациенток с диагностированным вагинитом составляла 14,1 (11,6; 14,7) мкмоль/(л×г). При бактериологическом исследовании у женщин с вагинитом выявлено наличие различных патогенных и условно патогенных микроорганизмов. Наиболее часто как в монокультуре, так и ассоциации с другими микроорганизмами, выявлялся *Ent. faecalis* (38% от общего числа случаев положительных посевов), *St. epidermidis* (31,7%), *Str. haemolyticus* (19%), *U. Urealyticum* (11,3%). Медиана концентрации D-лактата во влагалищном субстрате при верификации *Ent. faecalis* составила 14,18 (11,57; 15,07) мкмоль/(л×г), *St. epidermidis* – 14,26 (11,73; 15,68) мкмоль/(л×г), *Str. haemolyticus* – 12,21 (11,57; 14,54) мкмоль/(л×г), *U. Urealyticum* – 12,21 (11,47; 12,83) мкмоль/(л×г). Обращает на себя внимание отсутствие статистически значимых

различий в концентрации D-лактата при верификации различных патогенных и условно патогенных микроорганизмов ( $p > 0,05$ ).

Медиана концентрации D-лактата у пациенток с бактериальным вагинозом составила 14,5 (14,5; 14,7).

При анализе уровней D-лактата у обследованных пациенток установлено статистически значимый ( $p = 0,0001$ ) более высокий уровень D-лактата у пациенток с нормальным микробиоценозом в сравнении с пациентками с дисбиотическими (бактериальный вагиноз) и воспалительными процессами (вагинит). Концентрация D-лактата у пациенток с бактериальным вагинозом была несколько выше, чем у женщин с неспецифическим вагинитом, однако статистически значимого различия установлено не было ( $p > 0,05$ ). Более высокий уровень D-лактата во влагалищном субстрате при бактериальном вагинозе может быть объяснен массивным объемом бактериальной флоры в субстрате, характерным для бактериального вагиноза. Можно предположить, что низкий уровень D-лактата среди пациенток с воспалительными и дисбиотическими состояниями нижних отделов половых путей связан не столько с конкретным микроорганизмом, а с тем, насколько нестабильна сама по себе экосистема. Любое воспаление или дисбиоз не обладает стабильностью и не позволяет накапливаться D-лактату как продукту жизнедеятельности бактерий.

С целью определения диагностической ценности исследования концентрации D-лактата во влагалищном субстрате в дифференциальной диагностике нарушений микробиоценоза влагалища, воспаления слизистой влагалища, ассоциированного с патогенной и условно-патогенной бактериальной флорой и нормального микробиоценоза, был выполнен ROC-анализ (рис. 1).

ROC-анализ позволил установить точку (значение уровня D-лактата влагалищного секрета) диагностического разделения патологического процесса и нормального микробиоценоза. В результате анализа достоверно ( $p = 0,0001$ ) установлено, что таковой является значение D-лактата 18,14 мкмоль/(л×г), чувствительность и специфичность при этом составляют 98,4% и 98,1% соответственно. Обращает на себя внимание, что площадь под кривой ROC-анализа концентрации D-лактата



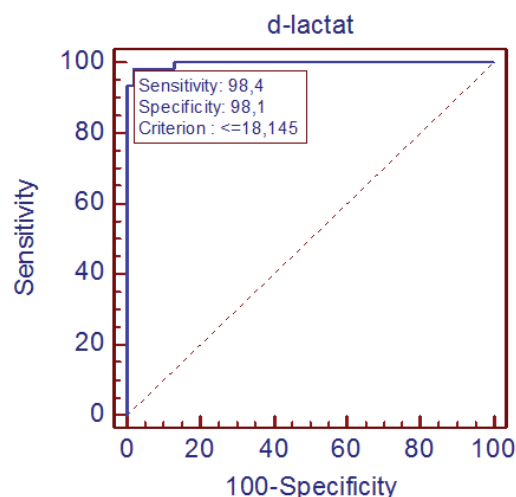


Рисунок 1 – График ROC-анализа концентрации D-лактата во влагалищном субстрате для диагностического разделения патологического процесса и нормальной микрофлоры (Area under the ROC curve= 0,998; Standard error= 0,00179; 95% Confidence interval= 0,965 to 1,000; P= 0,0001).

равна 0,998, что позволяет считать определение уровня D-лактата во влагалищном субстрате достоверным методом диагностики.

## Заключение

1. Этиологическая составляющая воспаления нижнего отдела половых путей (вагинита) у женщин репродуктивного возраста в большинстве случаев представлена неспецифической бактериальной флорой: *Ent. faecalis* (38% от общего числа случаев положительных посевов), *St. epidermidis* (31,7%), *Str. haemolyticus* (19%), *U. Urealyticum* (11,3%).

2. Медиана концентрации D-лактата в материале, полученном из заднего свода влагалища у женщин без признаков воспаления и нормальным микробиоценозом, составляет 24,8 (22,6; 31,2) мкмоль/(л×г). Медиана концентрации D-лактата у пациенток с диагностированным воспалением влагалища и нарушением микробиоценоза (бактериальный вагиноз), вне зависимости от бактериального агента, обуславливавшего воспалительный процесс, статистически значимо ниже ( $p=0,0001$ ) и составляет 14,1 (11,6; 14,7) мкмоль/(л×г). Значение D-лактата 18,14 мкмоль/(л×г) является точкой диагностического разделения патологического процесса и нормального микробиоценоза, чувствительность и специфичность при этом

составляют 98,4% и 98,1% соответственно.

3. Высокая чувствительность и специфичность теста на определение уровня D-лактата в материале, полученном из свода влагалища, позволяет использовать его в качестве универсального критерия наличия воспаления бактериальной этиологии и состояния экосистемы влагалища.

## Литература

1. Клиническая гинекология : избран. лекции / под ред. В. Н. Прилепской. – Москва : МЕДпресс-информ, 2007. – 480 с.
2. Кира, Е. Ф. Бактериальный вагиноз / Е. Ф. Кира. – СПб. : Нева-Люкс, 2001. – 364 с.
3. Актуальные вопросы гинекологии / под ред. Е. В. Коханевич. – Киев : Книга-плюс, 2007. – 421 с.
4. Патология влагалища и шейки матки / В. Е. Радзинский [и др.]; под ред. В. И. Краснополянского. – Москва : Медицина, 1997. – 272 с.
5. Патология шейки матки и генитальные инфекции / под ред. В. Н. Прилепской. – Москва : МЕДпресс-информ, 2008. – 384 с.
6. Гинекология. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. Г. М. Савельевой, Г. Т. Сухих, И. Б. Манухина. – Москва : ГЭОТАР-медиа, 2013. – 704 с.
7. Савичева, А. М. Краткое руководство по микроскопической диагностике инфекций, передаваемых половым путем / А. М. Савичева, Е. В. Соколовский, Д. Мариус. – СПб. : Фолиант, 2004. – 128 с.
8. D-lactate as an early marker of intestinal ischaemia after ruptured abdominal aortic aneurysm repair / M. Poeze [et al.] // Br. J. Surg. – 1998 Sep. – Vol. 85, N 9. – P. 1221–1224.
9. Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences / R. Martí [et al.] // Clin. Chem. – 1997 Jun. – Vol. 43, N 6, pt. 1. – P. 1010–1015.
10. Metabolic properties of lactobacilli in women experiencing recurring episodes of bacterial vaginosis with vaginal pH  $\geq 5$  / K. B. Garg [et al.] // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2010 Jan. – Vol. 29. – P. 123–125.
11. Зенькова, С. К. Бактериальные менингиты: клинико-эпидемиологические и патогенетические особенности, лечение : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / С. К. Зенькова ; Витеб. гос. мед. ун-т. – Витебск, 2009. – 158 с.
12. Smith, S. M. Use of D-lactic acid measurements in the diagnosis of bacterial infections / S. M. Smith, R. H. Eng, F. Buccini // J. Infect. Dis. – 1986 Oct. – Vol. 154, N 4. – P. 658–664.
13. Власов, В. В. Введение в доказательную медицину : или как использовать биомед. лит. для усовершенствования своей практики и исследований / В. В. Власов. – Москва : МедиаСфера, 2001. – 392 с.

Поступила 17.06.2016 г.

Принята в печать 05.08.2016 г.

## References

1. Prilepskaya VN, red. Klinicheskaia ginekologiya [Clinical gynecology]: izbran lektsii. Moscow, RF: MEDpress-inform; 2007. 480 p.
2. Kira EF. Bakterial'nyi vaginoz [Bacterial vaginosis]. Saint-Petersburg RF: Neva-Liuks; 2001. 364 s.
3. Kokhanevich EV, red. Aktual'nye voprosy ginekologii [Topical issues of gynecology]. Kiev, Ukraine: Knigapliius; 2007. 421 p.
4. Radzinskiy VE, Buyanova SN, Manukhin IB, Kondrikov NI, Krasnopol'skiy VI, red. Patologiya vlagalishcha i sheiki matki [Pathology of a vagina and neck of uterus]. Moscow, RF: Meditsina; 1997. 272 p.
5. Prilepskaya VN, red. Patologiya sheiki matki i genital'nye infektsii [Pathology of a neck of uterus and genital infections]. Moscow, RF: MEDpress-inform; 2008. 384 p.
6. Savelyeva GM, Sukhikh GT, Manukhin IB, red. Ginekologiya. Natsional'noe rukovodstvo. Kratkoe izdanie [Gynecology. National leadership. Short edition]. Moscow, RF: GEOTAR-media; 2013. 704 p.
7. Savicheva AM, Sokolovskiy EV, Marius D. Kratkoe rukovodstvo po mikroskopicheskoi diagnostike infektsii, peredavaemykh polovym putem [Short guide to microscopical diagnostics of infections, sexually transmitted]. Sankt-Peterburg, RF: Foliant; 2004. 128 p.
8. Poeze M, Froon AH, Greve JW, Ramsay G. D-lactate as an early marker of intestinal ischaemia after ruptured abdominal aortic aneurysm repair. Br J Surg. 1998 Sep;85(9):1221-4.
9. Martí R, Varela E, Segura RM, Alegre J, Suriñach JM, Pascual C. Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences. Clin Chem. 1997 Jun;43(6 Pt 1):1010-5.
10. Garg KB, Ganguli I, Kriplani A, Lohiya NK, Thulkar J, Talwar GP. Metabolic properties of lactobacilli in women experiencing recurring episodes of bacterial vaginosis with vaginal pH  $\geq$  5. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010 Jan;29:123-5.
11. Zenkova SK; Viteb Gos Med Un-t. Bakterial'nye meningity: kliniko-epidemiologicheskie i patogeneticheskie osobennosti, lechenie [Bacterial meningitis: kliniko-epidemiological and pathogenetic features, treatment]: dis ... kand med nauk: 14.00.10. Vitebsk, RB; 2009. 158 p.
12. Smith SM, Eng RH, Buccini F. Use of D-lactic acid measurements in the diagnosis of bacterial infections. J Infect Dis. 1986 Oct;154(4):658-64.
13. Vlasov VV. Vvedenie v dokazatel'nuiu meditsinu [Introduction to evidential medicine]: ili kak ispol'zovat' biomed lit dlia usovershenstvovaniia svoei praktiki i issledovani. Moscow, RF: MediaSfera; 2001. 392 p.

Submitted 17.06.2016

Accepted 05.08.2016

## Сведения об авторах:

Семенов Д.М. – д.м.н, доцент кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

## Information about authors:

Semenov D.M. – Doctor of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Obstetrics & Gynecology, Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University».

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра акушерства и гинекологии. E-mail: semenovdm@yandex.ru – Семенов Дмитрий Михайлович.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University», Chair of Obstetrics & Gynecology. E-mail: semenovdm@yandex.ru – Semenov Dmitry M.