

Состав микробиоты влагалища у больных бактериальным вагинозом

Полион Н. Н., Дюдюн А. Д., Агафонов В. Н., Каменев В. И., Кравченко М. А.

ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»
КЗ «Днепропетровский областной кожно-венерологический диспансер»

Днепропетровского областного совета»

Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава

Цель работ: изучить микробный состав слизистой влагалища у женщин, больных бактериальным вагинозом (БВ). **Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 147 женщин, больных БВ. Проводились общепринятые микроскопические и бактериологические методы исследования, а также метод ПЦР диагностики в режиме реального времени с использованием набора реагентов «Фемофлор». **Результаты обследования и их обсуждение.** У женщин, больных БВ, находившихся под нашим наблюдением, был установлен у 57 (38,8 %) умеренный и у 90 (61,2 %) значительный уровень условно-патогенных микроорганизмов на слизистой влагалища. **Выводы.** Выявленные изменения в количественном и качественном составе микробиоты влагалища у женщин, больных БВ, дают возможность обосновано планировать и проводить комплексное индивидуальное лечение пациентов с последующим контролем эффективности проведенной терапии, диспансерного наблюдения и предупреждения рецидивов заболевания.

Ключевые слова: микробный состав, дисбактериоз, инфекционные заболевания, бактериальный вагиноз, диагностика.

Несмотря на большой арсенал и широкое применение антибактериальных препаратов, инфекционные заболевания и осложнения, обусловленные микробными агентами, как и ранее, занимают доминирующее положение в патологических состояниях человека. Среди всех бактериальных заболеваний человека, большой удельный вес имеют патологические состояния, связанные с нарушениями нормальной микробиоты организма. Примером указанных состояний может служить, развитие влагалищных дисбактериозов у женщин. Чаще всего подобные состояния возникают при бактериальном вагинозе [1, 2].

Бактериальный вагиноз, вместе с трихомонозом и кандидозом, относится к одной из ведущих причин патологических выделений у женщин детородного возраста. Так, у 95 % женщин с жалобами на длительные и обильные выделения из влагалища диагностируется бактериальный вагиноз [4, 8].

Бактериальный вагиноз предопределяет собой постоянное накопление и сохранение высоких концентраций условно-патогенных микроорганизмов, являясь фактором риска развития серьезных патологических акушерско-гинекологических состояний. Отмечена прямая связь бактериального вагиноза с неблагоприятными результатами беременности, а также

послеродового эндометрита, встречаемость которого у родильниц с бактериальным вагинозом увеличивается в три и более раз. В случаях проникновения и размножения условно-патогенных микробов в околоплодных водах, в большом количестве накапливаются фосфолипиды микробного происхождения, запуская синтез простагландинов *F2b* и *E2* из тканевых фосфолипидов амниоального эпителия, что приводит к непроизвольным выкидышам и преждевременным родам [2, 8, 9, 11, 13, 15].

Кроме того, на фоне бактериального вагиноза из-за развивающейся тканевой гипоксии и высоких показателей *pH* влагалищного секрета резко увеличивается риск заражения ИППП. У больных бактериальным вагинозом происходит активация латентной вирусной инфекции, что весьма опасно во время беременности. Анкирская А. С. с соавт. указывают на эпидемическую связь бактериального вагиноза с неопластическими процессами шейки матки [1, 10, 12].

Многие неясные вопросы этиологии и патогенеза бактериального вагиноза создают определенные трудности при установлении диагноза и проведении лечения больных. Порой очень сложно и иногда невозможно дифференцировать причину возникновения заболевания от его следствий. Видимо, это обусловлено тем,

что возникновение и развитие патологического процесса является совокупностью множества составляющих, значительная часть из которых до конца не изучена [1, 3, 5, 6].

Достоверными данными для диагностики и дальнейшего успешного лечения больных с выявленными патологическими состояниями обеспечивается [4-7]:

- совокупность клиничко-лабораторных данных;
- подробное изучение анамнеза;
- исключение безусловно патогенных возбудителей, которые вызывают заболевание органов мочеполовой системы;
- сопоставление количественного и качественного состава микроорганизмов;
- учёт периода жизненного цикла женщин.

Именно нарушение количественных соотношений в микробиоценозе влагалища и является важнейшим фактором клинических проявлений бактериального вагиноза; при этом степень нарушения микробиоты может касаться как видового состава, так и количественного уровня и активности каждого из множества существующих видов микроорганизмов [4, 5, 14, 16].

Вероятно, что количество микроорганизмов, имеющих значение для возникновения и развития бактериального вагиноза, будет постоянно расти, а задача специалистов заключается в определении их этиологической роли в этом патологическом процессе, а также в установлении их отношений к нормальному влагалищному микробиотопу [2, 5, 6, 8]. **Знание количественного и качественного состава микроорганизмов у больных бактериальным вагинозом** позволяет врачам обосновано планировать и проводить комплекс медицинских мероприятий, направленных на санацию микробных агентов и лечения больного [4, 9, 12].

Цель работы – изучить микробный состав слизистой влагалища у женщин, больных бактериальным вагинозом.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находилось 147 женщин, больных бактериальным вагинозом. В начале клинического обследования проводили сбор анамнеза и осмотр больных. Детализируя жалобы пациенток, акцентировали внимание на выделениях из половых органов, характере и количестве их, наличии запаха. Изучая динамику патологического процесса, выясняли частоту обострений и возможные их причины, какое и когда проводилось лечение и его эффективность. Для установления клиничко-эпидемиологических особенностей дисбиотических нарушений мы уточняли

срок возникновения жалоб, их вариабельность, связь с половой жизнью, стрессовыми состояниями, экологическими, социальными, бытовыми условиями жизни. Также учитывали возраст больных, данные гинекологического, урологического анамнеза, характер половой жизни, перенесенные в прошлом венерические заболевания, методы лечения и их эффективность. Устанавливали наличие в настоящее время вредных привычек (курение, алкоголь, наркомания и т. д.), а также аллергологический анамнез.

Особое внимание обращали на характер выделений, их продолжительность и количество (умеренные или обильные), цвет, гомогенность, наличие запаха, а также как выделения распределяются по стенкам слизистой влагалища, связь характера выделений и наличия запаха с менструальным циклом и с половым актом.

Диагностика бактериального вагиноза состояла из двух этапов:

- на первом этапе учитывали клиничко-лабораторные признаки бактериального вагиноза:

- 1) характер влагалищных выделений;
- 2) уровень водородного индекса вагинального секрета;
- 3) наличие специфического «рыбного запаха»;
- 4) положительный аминный тест;
- 5) наличие «ключевых» клеток при микроскопии влагалищных мазков, окрашенных по Граму или метиленовым синим;

одновременно всем больным бактериальным вагинозом проводилось обследование на ИППП;

- на втором этапе проводились бактериологические методы исследования с целью идентификации микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом.

Бактериологические методы исследования проводились по общепринятым методикам, которые были наиболее доступными и информативными, когда определяли грамм-вариабельны бактерии и палочки с образованием так наз. «ключевых клеток»:

- *pH* влагалищного содержимого определяли с помощью специального универсального индикатора фирмы *Merck*, что позволило получить результаты с точностью до 0,5;

- летучие амины, производящие анаэробы в виде солей в процессе метаболизма, определяли с помощью аминного теста; в основу метода положено смешивания равных пропорций вагинального секрета с 10-процентным раствором *КОН*, в результате чего образуются летучие амины с запахом «тухлой рыбы», как результат образования

путресцина, кадаверина, триметиламина;

- на питательных средах выделяли чистую культуру возбудителя и проводили идентификацию с изучением морфологических, тинкториальных, культуральных, ферментативных, серологических и других биологических свойств с определением чувствительности к антибактериальным препаратам;

- исследовали биологический материал из уретры, влагалища и шейки матки, сделав посева на стандартный набор селективных и дифференцированно-диагностических питательных средах для выделения аэробных и анаэробных микроорганизмов:

- 1) агар Эндо (для энтеробактерий);
- 2) желточно-солевой агар (стафилококки);
- 3) агар Сабуро (дрожжеподобные грибы);
- 4) 5-процентный кровяной агар (гемолитические формы);
- 5) кровяной анаэробный бактоагар с канамицином и желчью (бактероиды гр. *B. fragilis*);
- 6) агар для лактобактерий (лактобактерии);
- 7) среда Вильсона Блэр (клостридии);
- 8) агар для бифидобактерий (бифидобактерии);
- 9) энтерококковые дифференциально-диагностические среды (ЕДДС);
- 10) среды контроля стерильности (СКС).

На 5-процентном кровяном агаре учитывали процентное соотношение между колониями, которые обладают или не обладают гемолитическими свойствами. Чашки со средой Сабуро выдерживали в термостате в течение 3-5 дней. Затем плотные колонии пересевали на среду с солодовым суслон и размещали в термостате на 3-4 дня. При изучении нативного препарата находили длинные или короткие нити мицелия, характерные для патогенных дрожжеподобных грибов.

Применялся метод ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов «Фемофлор». Метод основан на комплексной количественной оценке биоты с проведением сравнительного анализа конкретных представителей нормо- и условно-патогенной биоты с общим количеством микроорганизмов с целью выявления дисбаланса, его степени и определения этиологической роли конкретных микроорганизмов в его развитии. Данная методика позволяет в короткие сроки:

- объективно оценить качественный и количественный состав микробиоты;
- дифференцировать состояние физиологического равновесия и дисбаланса;
- оптимизировать и индивидуализировать терапию;

- проводить мониторинг эффективности терапии;
- определять критерии излечения и прогноз заболевания.

Результаты обследования и их обсуждение.

При микроскопическом исследовании биологического содержимого влагалища, у всех обследуемых больных были выявлены «ключевые» клетки; установлен:

- положительный аминовый тест – у 142 (96,6 %) пациенток;

- слабоположительный – у 5 (3,4 %) пациенток.

Дисбактериоз влагалища у обследуемых больных характеризовался резким снижением или полным отсутствием лакто- и бифидобактерий, обильным полиморфизмом грамположительных, грамотрицательных палочек и кокковых микроорганизмов.

Во время обследования применялся метод ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов «Фемофлор». Этот метод базируется на комплексной количественной оценке микроорганизмов методом ПЦР в режиме реального времени с проведением сравнительного анализа конкретной микробиоты и общим количеством микроорганизмов с целью выявления степени микробного дисбаланса и определения этиологической роли каждого конкретного микроорганизма в развитии патологического состояния. Этот способ позволил в короткие сроки:

- объективно оценить качественный и количественный состав микробиоты;
- дифференцировать состояния физиологического равновесия и дисбаланса;
- оптимизировать и индивидуализировать врачебную терапию, а также проводить мониторинг эффективности проведенного лечения;
- определить критерии санации инфекционных агентов и прогноз заболевания.

Проведенные исследования позволили нам установить общую бактериальную массу; количество нормобиоты (*Lactobacterium spp.*); количество условно-патогенной микробиоты:

- факультативных аэробов:

- 1) *Enterobacteriaceae*;
- 2) *Streptococcus spp.*;
- 3) *Staphylococcus spp.*;

- анаэробов:

- 1) *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas spp.*;
- 2) *Atopobium vaginae*;
- 3) *Eubacterium spp.*;
- 4) *Sneathia spp* / *Leptotrichia spp* / *Fusobacterium spp.*;
- 5) *Megasphaera spp* / *Veillonella spp* / *Dialli-*

ster spp;

6) *Lachnobacterium spp* / *Clostridium spp*;

7) *Mobiluncus spp* / *Corynebacterium spp*;

8) *Peptostreptococcus spp*);

- *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealiticum*;

- *Candida albicans*.

Из 147 больных бактериальным вагинозом у 105 (71,4 %) выявлен анаэробный дисбаланс, который вызван анаэробными микроорганизмами:

- *Gardnerella vaginalis*;

- *Prevotella bivia*;

- *Porphyromonas spp*;

- *Atopobium vaginae*;

- *Eubacterium spp*;

- *Sneathia spp*;

- *Leptotrichia spp*;

- *Fusobacterium spp*;

- *Megasphaera spp*;

- *Veilonella spp*;

- *Dialister spp*;

- *Lachnobacterium spp*;

- *Clostridium spp*;

- *Mobiluncus spp*;

- *Corynebacterium spp*;

- *Peptostreptococcus spp*.

У 42 (28,6 %) больных выявлен смешанный дисбаланс, который был вызван сочетанием одновременно анаэробных та аэробных микроорганизмов (*Enterobacteraceae*, *Streptococcus spp* и *Staphylococcus spp.*), а также наличием микоплазм и грибов рода Кандида, которые определялись в значимых количествах.

У женщин, больных бактериальным вагинозом, находящихся под нашим наблюдением, был установлен у 57(38,8 %) умеренный и у 90 (61,2 %) значительный уровень условно-патогенных микроорганизмов на слизистой влагалища.

Выводы. Выявленные изменения в количественном и качественном составе микробиоты влагалища у женщин, больных бактериальным вагинозом, дают возможность обосновано планировать и проводить комплексное индивидуальное лечение пациентов с последующим контролем эффективности проведенной терапии, диспансерного наблюдения и предупреждения рецидивов заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анкирская А. С. Бактериальный вагиноз / А. С. Анкирская // Акуш. и гин. – 2005. – № 3. – С. 10-13.
2. Акушерские и перинатальные осложнения у беременных, страдающих бактериальным вагинозом / Д. Р. Аглымова, К. Р. Бондаренко, Ю. Р. Гайсина, А. Р. Мавзютов // Сб. материалов 9 Всерос. науч. форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 7.
3. Бадретдинова Ф. Ф. Реабилитационные мероприятия при бактериальном вагинозе / Ф. Ф. Бадретдинова, М. А. Ахматгалиева, С. А. Минибаева // Вестн. восстановительной медицины. – 2007. – № 2. – С. 62-64.
4. Дюдюн А. Д. Комплексне лікування хворих на бактеріальний вагіноз з урахуванням мікробіотичних та імунних порушень / А. Д. Дюдюн, О. В. Кружнова, В. В. Гладишев // Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. – 2013. – № 1-4. – С. 21-29.
5. Исследование микробного спектра состава вагинального содержимого с использованием ДНК-чипов / К. И. Плахова, М. А. Гомберг, М. Е. Атрошкина [и др.] // Второй Всерос. конгресс дерматовенерологов : Тез. науч. работ. – СПб., 2007. – С. 162.
6. Количественное выявление микроорганизмов с помощью ПЦР в реальном времени – новые возможности в лабораторной диагностике дисбактериоза влагалища / О. Ю. Шипулина, В. С. Насонова, О. В. Пикасова, Г. А. Шипулин // Сб. мат. 9 Всерос. науч. форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 573-574.
7. Мавров І. І. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом / І. І. Мавров, О. П. Белозоров, Л. С. Тацька. – Харків, 2000. – 120 с.
8. Макаров О. В. Бактериальный вагиноз – новые возможности диагностики и лечения / О. В. Макаров, А. З. Хашукоева, З. З. Хашукоева // Сб. мат. 9 Всерос. науч. форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 449-450.
9. Микроекология влагалища при дисбиозе / Бондаренко К. Р., Хасанова Г. Ф., Аглымова Д. Р. [и др.] // Сб. мат. 9 Всерос. науч. форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 336-337.
10. Москаленко В. Ф. Диагностика урогенитальных нарушений у женщин, обусловленных условно-патогенными микроорганизмами, с применением метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени / В. Ф. Москаленко // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2012. – № 2 (45). – С.123.
11. Перспективы нового подхода к лечению бактериального вагиноза и кандидозного кольпита в первом триместре беременности / В. А. Мельников, Н. А. Краснова, Н. А. Семенова [и др.] // Сб. мат. 9 Всерос. науч. форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 164.
12. Порівняльний кількісний аналіз показників мікробіоценозу різних біологічних середовищ у жінок з вірусно-бактеріальною та бактеріальною етіологією запальних про-

- цесів геніталій / І. Б. Вовк, О. О. Ревенько, О. Ю. Борисюк [та ін.] // Здоровье женщины. – 2005. – № 3. – С. 79-82.
13. Потатуркина-Нестерова Н. И. Изменение показателей иммунореактивности у женщин с нарушением микробиоценоза влагалища при метаболическом синдроме / Н. И. Потатуркина-Нестерова, О. И. Ивандеева, И. С. Немова // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 5-2. – С. 334-337.
14. Семеняк А. В. Стан мікробиоценозу піхви у жінок із хронічним аднекситом / А. В. Семеняк, О. В. Бакун // *Буков. мед. вісн.* – 2011. – Т. 15, № 2. – С. 71-74.
15. *Interleukin-6, interleukin-10 and interleukin-12 in vaginal fluid from women with bacterial vaginosis* / T. Weissenbacher, C. Walter, I. Mylonas [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2010. – Vol. 281, No 1. – P. 77-80.
16. *Smart S. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis* / S. Smart, A. Singal, A. Mindel // *Sex. Transm. Infect.* – 2004. – Vol. 80. – P. 58–62.

СКЛАД МІКРОБІОТИ ПІХВИ У ХВОРИХ НА БАКТЕРІАЛЬНИЙ ВАГІНОЗ

Поліон Н. М., Дюдюн А. Д., Агафонов В. М., Каменів В. І., Кравченко М. А.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

КЗ «Дніпропетровський обласний шкірно-венерологічний диспансер» Дніпропетровської обласної ради Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава

Мета роботи: вивчити мікробний склад слизової піхви у жінок, хворих на бактеріальний вагіноз (БВ). **Матеріали та методи.** Під спостереженням перебувало 147 жінок, хворих на БВ. Проводилися загальноприйняті мікроскопічні і бактеріологічні методи дослідження, а також метод ПЛР діагностики у режимі реально часу з використанням набору реагентів «Фемофлор». **Результати обстеження та їх обговорення.** У жінок, хворих на БВ, що знаходилися під нашим наглядом, був встановлений у 57 (38,8 %) помірний і у 90 (61,2 %) значний рівень умовно-патогенних мікроорганізмів на слизовій піхви. **Висновки.** Виявлені зміни у кількісному і якісному складі мікробиоти піхви у жінок, хворих на БВ, дають можливість обґрунтовано планувати і проводити комплексне індивідуальне лікування пацієнтів з подальшим контролем ефективності проведеної терапії, диспансерного спостереження та попередження рецидивів захворювання.

Ключові слова: мікробний склад, дисбактеріоз, інфекційні захворювання, бактеріальний вагіноз, діагностика.

THE COMPOSITION OF THE VAGINAL MICROBIOTA IN PATIENTS WITH BACTERIAL VAGINOSIS

Polyon N. M., Dyudyun A. D., Agafonov V. M., Kamenev V. I., Kravchenko M. A.

“Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine” SE

“Dnipropetrovsk Regional Skin and Venereologic Dispensary” of Dnipropetrovsk Regional Council” ME Higher State Educational Establishment of Ukraine “Ukrainian Medical Stomatological Academy”, Poltava

The aim: to investigate the microbial composition of the vaginal mucosa in female patients with bacterial vaginosis (BV). **Methods.** 147 female patients with BV were under our observation. Generally used microscopic and bacteriological methods of research and diagnostic and also PCR method in real-time were used with the set of reagents “Femoflor”. **Results and discussion.** 57 (38.8 %) cases of moderate level and 90 (61.2 %) cases of significant level of opportunistic pathogens were diagnosed in the vaginal mucosa of female patients with BV being under our observation. **Conclusions.** The changes in the quantitative and qualitative microbiological composition of the vagina in women patients with BV having been identified can justify the individual treatment plan for patients with the following monitoring of effectiveness of the therapy having been carried out, dispensary observation and prevention of the relapses.

Keywords: microbiological composition, dysbacteriosis, infectious diseases, bacterial vaginosis, diagnostics.

Полион Наталья Николаевна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры кожных и венерических болезней ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины».

Дюдюн Анатолий Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой кожных и венерических болезней ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины».

Агафонов Владимир Николаевич – врач-дерматовенеролог КЗ «Днепропетровский областной кожно-венерологический диспансер» Днепропетровского областного совета».

Каменів Владимир Иванович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней и медицины неотложных состояний, с кожными и венерическими болезнями Высшего государственного учебного заведения Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава.

Кравченко Марина Анатольевна – врач-дерматовенеролог КЗ «Днепропетровский областной кожно-венерологический диспансер» Днепропетровского областного совета».

andd@ua.fm