

Каюкова С.И., Эргешов А.Э., Демикова О.В.,
Романов В.В., Лулуева Ж.С., Багдасарян Т.Р., Донников А.Е.

УДК 616.24-002.5-08
DOI 10.25694/URMJ.2018.05.55

Изменения вагинальной микробиоты у женщин, больных туберкулезом органов дыхания на фоне длительной химиотерапии

Фтизиатрический отдел, ФГБНУ «Центральный научно – исследовательский институт туберкулеза», г. Москва, ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова», г. Москва

Kayukova S.I., Ergeshov A.E., Demikhova O.V., Romanov V.V., Lulueva Z.S, Bagdasaryan T.R., Donnikov A.E.

Changes to vaginal microbiotes in women with pulmonary tuberculosis and long-term chemotherapy

Резюме

Цель: Определить количественные изменения микробиоценоза слизистых генитального тракта у женщин, больных туберкулезом органов дыхания на фоне проводимой химиотерапии. Материал и методы: Обследовано 54 женщины, больные туберкулезом органов дыхания на этапе подбора и в течение 40-150 дней химиотерапии. Проведено стандартное исследование, принятое в клиниках фтизиатрического и акушерско - гинекологического профиля; специализированное исследование вагинальной микробиоты с помощью инновационной тест – системы «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК – технология», Россия) с ПЦР – детекцией результатов в режиме реального времени и количественной характеристикой 28 условно – патогенных микроорганизмов. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью статистического пакета IBM SPSS Statistics v.21 (2012г.) Результаты: Через 40-150 дней химиотерапии в вагинальной микробиоте установлено достоверное уменьшение *Lactobacillus* spp. Enterobacteriaceae, Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Sneathia spp., Lachnobacterium spp., Mobiluncus spp., Megasphaera spp., Peptostreptococcus spp. и увеличение *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Candida* spp. Выводы: 1. Женщины репродуктивного возраста, больные впервые выявленным туберкулезом органов дыхания и получающие длительные курсы химиотерапии, представляют собой группу риска по развитию вагинальных дисбактериозов. 2. Для объективной диагностики вагинальных дисбактериозов необходимо применять молекулярно – генетические методы исследования в виде ПЦР – реакции в режиме реального времени и количественным подсчетом условно – патогенных микроорганизмов. 3. При определении вида дисбаланса вагинальной микробиоты важно оценивать количественные изменения следующих микроорганизмов: *Lactobacillus*, Streptococcus spp., Lachnobacterium spp., Megasphaera spp., и Peptostreptococcus spp., *Gardnerella vaginalis* и *Candida* spp.

Ключевые слова: туберкулез, химиотерапия, дисбактериоз

Summary

Objective: To determine the quantitative changes in the microbiocenosis of the mucous genital tract in women with tuberculosis of the respiratory system against the background of ongoing chemotherapy. Material and methods: 54 women with tuberculosis of respiratory organs were examined at the stage of selection and within 40-150 days of chemotherapy. A standard study was carried out in the clinics of phthisiology and obstetrics and gynecology; specialized study of vaginal microbiota using the innovative test system "Femoflor" (LLC "NPO DNA - technology", Russia) with PCR - real-time detection of the results and quantitative description of 28 conditionally pathogenic microorganisms. Statistical processing of the results was carried out using the statistical package IBM SPSS Statistics v.21 (2012). Results: After 40-150 days of chemotherapy in the vaginal microbiota, a significant decrease in *Lactobacillus* spp was established. Enterobacteriaceae, Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Sneathia spp., Lachnobacterium spp., Mobiluncus spp., Megasphaera spp., Peptostreptococcus spp. and an increase in *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Candida* spp. Conclusion: 1. Women of reproductive age, patients with newly diagnosed respiratory tuberculosis, who are receiving long-term courses of chemotherapy, represent a risk group for the development of vaginal dysbiosis. 2. For

objective diagnostics of vaginal dysbacterioses, it is necessary to apply molecular genetic methods of research in the form of PCR reaction in real time and quantitative counting of conditionally pathogenic microorganisms. 4. Лечение вагинальных дисбактериозов должно быть индивидуализированным в зависимости от имеющегося спектра условно – патогенных аэробных и анаэробных бактерий. 3. When determining the type of imbalance of a vaginal microbiota, it is important to evaluate the quantitative changes of the following microorganisms: *Lactobacillus*, *Streptococcus* spp., *Lachnobacterium* spp., *Megasphaera* spp., And *Peptostreptococcus* spp., *Gardnerella vaginalis* and *Candida* spp. 4. Treatment of vaginal dysbacteriosis should be individualized depending on the available spectrum of conditionally pathogenic aerobic and anaerobic bacteria.

Key words: tuberculosis, chemotherapy, dysbacteriosis.

Введение

Активная туберкулезная инфекция и длительная химиотерапия неблагоприятно сказываются на состоянии репродуктивных органов женщин [2,3]. Длительное применение противотуберкулезных препаратов (ПТП) сопряжено с развитием нежелательных явлений [5]. Одним из таких побочных эффектов является нарушение микроэкологии слизистых генитального тракта. Однако, классические бактериологические методы исследования не позволяют произвести количественную оценку аэробных и анаэробных микроорганизмов, колонизирующих слизистую половых органов. Поиск и внедрение инновационных диагностических тест-систем для количественной оценки вагинальной микробиоты позволят адекватно оценить состояние микрофлоры и провести оптимальное лечение у женщин, больных туберкулезом, принимающих длительный курс химиотерапии [1,4].

Материал и методы

На базе ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза» проведено обследование и лечение 54 женщин с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания (ТОД). Критериями включения в исследуемую группу явились: впервые выявленный активный туберкулез органов дыхания, подбор и применение интенсивной фазы химиотерапии в условиях противотуберкулезного стационара, отсутствие тяжелых соматических заболеваний, добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Применялись методы: стандартное обследование, принятое в клиниках фтизиатрического профиля (сбор данных анамнеза, общий осмотр, рентгено – томографическое исследование органов дыхания, бронхоскопия, бактериологическое и молекулярно - генетическое исследование мокроты, клинический анализ крови, коагулограмма, биохимический анализ крови); стандартное обследование, принятое в клиниках акушерско – гинекологического профиля (сбор данных анамнеза, гинекологический осмотр, микроскопия вагинального мазка, кольпоскопия, по показаниям - прицельная биопсия шейки матки); специализированное исследование вагинальной микробиоты с помощью инновационной тест – системы «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК – технология», Россия) с ПЦР – детекцией результатов в режиме реального времени и количественной характеристикой 28 условно – патогенных микроорганизмов. Количественную оценку генитальной биоты проводили в абсолютных показателях. Рассчитывали с помощью программного обеспечения приборов для ПЦР-РВ

(ДТ96, ДТ322) на основании номера «порогового» цикла, на котором начинается регистрация положительной реакции: Количество ДНК искомого микроорганизма в образце выражали в геном-эквивалентах (ГЭ), которое пропорционально количеству микроорганизма. При этом оценивали общую бактериальную массу (ОБМ) - показатель, по которому можно судить об общем количестве бактерий, присутствующих в исследуемой биопробе, в норме - 6-8. Изучали количество лактобацилл, которые являются главной составляющей ОБМ и составляют в норме – 6-8. Пороговым диагностическим уровнем для дрожжеподобных грибов рода *Candida* spp. считали значение – 3, в норме отсутствие или меньше 3. Количество остальных аэробных и анаэробных условно патогенных бактерий считали физиологичном при значениях, не превышающих – 3-4.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью статистического пакета IBM SPSS Statistics v.21 (2012г.). Достоверно значимую разницу считали при $p \leq 0,05$; стандартное отклонение считали при значениях ≥ 1 .

Результаты и обсуждение

В группе исследуемых пациенток преобладали женщины активного репродуктивного возраста – 30,9±5,8 лет, преимущественно жительницы регионов Российской Федерации – 30 (55,6%), не имеющие постоянной работы – 39 (72,2%). Анализ сопутствующей патологии показал отягощенный соматический анамнез у 28 (51,6%) женщин, в структуре которого преобладали болезни желудочно – кишечного тракта – 7 (25%), урологическая и эндокринная патология – по 5 (17,9%).

Изучение клинических форм туберкулеза органов дыхания выявило преобладание инфильтративной и кавернозной форм – 27 (50%) и 11 (20,4%); реже регистрировали очаговую и диссеминированную формы – 5 (9,3%), туберкулемы – 4 (7,4%), цирротическую форму – 2 (3,7%). В 17 (31,5%) случаях имело место сочетание ТОД с туберкулезом плевры – 7 (13%), бронхов – 6 (11,1%), внутригрудных лимфатических узлов – 3 (6%), половых органов – 1 (1,9%).

В результате проведенного микробиологического, молекулярно – генетического и рентгено - томографического обследования среди пациенток, больных активными формами ТОД, установлена высокая частота бактериовыделения – 36 (66,7%) с лекарственной устойчивостью возбудителя – 33 (61,1%) и деструкцией легочной ткани – 23 (42,6%).

Таблица 1. Динамика показателей вагинальной микробиоты у пациенток, больных ТОД в процессе мониторинга химиотерапии

Показатель микробиоты (геном/эквивалент)	Химиотерапия (дни)		
	до начала ХТ	40	150
ОБМ	5,8±1,9	5,4±2,0	4,6±1,7
<i>Lactobacillus</i> spp.	5,8±1,8	1,9±0,6	1,1±0,3
<i>Enterobacteriaceae</i>	2,7±1,5	2,2±1,3	0,1
<i>Streptococcus</i> spp.	4,3±2,0	2,1±0,6	0,3
<i>Staphylococcus</i> spp.	2,2±1,0	1,2±0,3	0,2
<i>Gardnerella vaginalis</i>	2,3±0,9	4,4±1,6	4,9±1,9
<i>Eubacterium</i> spp.	3,6±1,4	3,6±1,3	4,1±1,3
<i>Sneathia</i> spp.	1,3±0,5	0,3±	0,2
<i>Lachnobacterium</i> spp.	2,1±0,4	0,5	0,1
<i>Mobiluncus</i> spp.	2,5±1,1	1,4±0,2	0,1
<i>Megasphaera</i> spp.	1,6±0,3	0,2	0
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	1,5±0,2	0	0
<i>Candida</i> spp.	1,4±0,2	4,8±1,5	5,1±2,0

Оценка гинекологического анамнеза установила начало менархе с 13,2±2,9 лет, со средней длительностью цикла – 27,6±3,4 дней, продолжительностью менструального кровотечения – 5,5±0,7 дней, преимущественно умеренным и безболезненным характером менструаций – 43 (79,6%) и 52 (96,3%). Возраст начала половой жизни среди обследованных пациенток составил – 18,2±3,5 лет, с использованием контрацепции в 34 (63%) случаях. Имели беременность в анамнезе 31 (57,4%) женщина, которая закончилась родами – 27 (50%), медицинским абортom – 10 (18,5%), самопроизвольным выкидышем – 8 (14,8%). Отягощенный гинекологический анамнез регистрировали у 27 (50%) пациенток, в структуре патологии преобладали: хронический сальпингит – 12 (22,2%), патологии шейки матки – 9 (16,7%), нарушение менструального цикла – 8 (14,8%), миома матки – 6 (11,1%), бесплодие – 5 (9,3%), киста яичника – 4 (7,4%).

Изучение особенностей применяемой противотуберкулезной терапии показало выбор режимов химиотерапии: I режим – 14 (25,9%), II режим – 3 (5,6%), III режим – 1 (1,9%), IV режим – 16 (29,6%), V режим – 6 (11,1%), индивидуальный режим – 14 (25,9%). При этом в 19 (35,2%) случаях наблюдали развитие нежелательных явлений в виде неврологических реакция (головокружение, дискоординация движений) – 8 (14,8%), болей в суставах – 7 (13%), аллергических реакций – 6 (11,1%), повышения трансаминаз в биохимическом анализе крови – 5 (9,3%), снижения слуха – 2 (3,7%).

Состояние вагинальной микробиоты у пациенток с активным ТОД до начала химиотерапии характеризовалось физиологичными значениями общей бактериальной массы (ОБМ) – 5,8±1,9; количеством *Lactobacillus* spp. – 5,8±1,8; *Streptococcus* spp. – 4,3±2,0; *Eubacterium*

spp. – 3,6±1,4 и *Candida* spp. – 1,4±0,2. На фоне активной туберкулезной инфекции, до применения интенсивной фазы специфической терапии нами обнаружены низкие значения *Enterobacteriaceae* – 2,7±1,5; *Staphylococcus* spp. – 2,2±1,0; *Gardnerella vaginalis* – 2,3±0,9; *Sneathia* spp. – 1,3±0,5; *Lachnobacterium* spp. – 2,1±0,4; *Mobiluncus* spp. – 2,5±1,1; *Megasphaera* spp. – 1,6±0,3; *Peptostreptococcus* spp. – 1,5±0,2.

Через 40 и 150 дней химиотерапии мы не наблюдали достоверно значимых изменений ОБМ – 5,4±2,1 и 4,6±1,7. Однако, регистрировали статистически достоверное снижение *Lactobacillus* spp. – 1,9±0,6 и 1,1±0,3 ($p \leq 0,03$); *Streptococcus* spp. – 2,1±0,6 и 0,3 ($p \leq 0,04$); *Lachnobacterium* spp. – 0,5-0,1 ($p \leq 0,05$); *Megasphaera* spp. – 0,2-0 и *Peptostreptococcus* spp. – 0-0 ($p \leq 0,05$). Кроме того, наблюдали снижение количества других условно патогенных бактерий лишь к 150 дню противотуберкулезного лечения: *Enterobacteriaceae* – 0,1 ($p \leq 0,05$); *Sneathia* spp. – 0,2; *Mobiluncus* spp. – 0,1; *Peptostreptococcus* spp. – 0. Напротив, количество *Gardnerella vaginalis* и *Candida* spp. достоверно повышалось к 40-150 дню специфической терапии – 4,4±1,6 и 4,9±1,9 ($p \leq 0,05$) и ($p \leq 0,01$); 4,8±1,5 и 5,1±2,0 (таблица 1, диаграмма 1, диаграмма 2).

Полученные количественные результаты динамики показателей вагинальной микробиоты мы сопоставили с клиническими данными (развитием локальных воспалительных процессов). Установлено достоверное повышение частоты воспалительных заболеваний наружных половых органов в виде бактериального вагиноза и кандидозного вагинита через 40 дней ХТ с 9 (16,7%) до 29 (53,7%) ($p \leq 0,001$). После применения курса противогрибковой, пробиотической, иммуномодулирующей терапии и местной санации наружных половых органов наблюдали

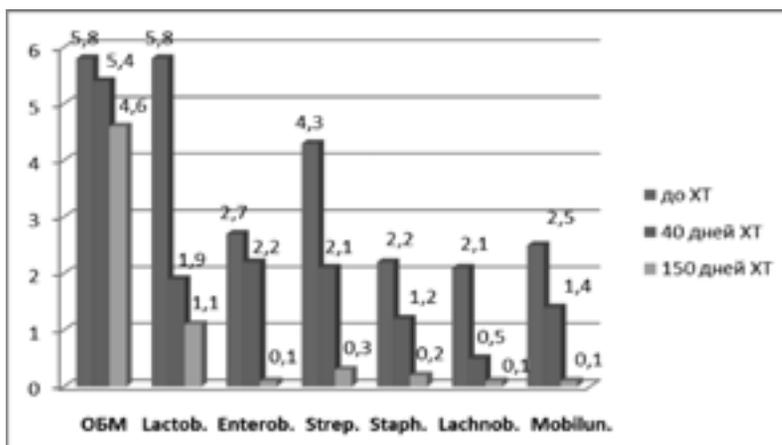


Диаграмма 1. Динамика снижения показателей вагинальной микробиоты у пациенток с ТОД через 40 и 150 дней химиотерапии.

снижение частоты вагинитов до 5 (9,3%) ($p \leq 0,0001$). Дальнейший курс противотуберкулезной терапии сопровождали назначением системных и местных пробиотиков и противогрибковых препаратов в профилактических дозах.

В данном исследовании состояние вагинальной микробиоты до применения химиотерапии можно расценить как нормобиоту, со сниженными значениями некоторых аэробов и анаэробов, по - видимому, за счет действия имеющейся активной туберкулезной инфекции. На динамику количественного соотношения микроорганизмов, колонизирующих слизистую генитального тракта, оказывают влияние большое количество факторов, среди которых наиболее значимым является антибактериальная терапия. Через 40 и 150 дней противотуберкулезного лечения снижение количества *Lactobacillus*, *Streptococcus* spp., *Lachnobacterium* spp., *Megasphaera* spp., и *Peptostreptococcus* spp. свидетельствует о недостаточном заселении исследуемого биотопа бактериями и может служить одним из критериев аэробно – анаэробного дисбаланса урогенитальной биоты на фоне применения антибактериальных препаратов широкого спектра действия, используемых в представленных режимах химиотерапии. При этом повышение уровня *Gardnerella*

vaginalis и *Candida* spp. через 40 и 150 дней ХТ необходимо расценивать как показатели, являющиеся маркерами вагинального дисбактериоза. Поскольку в урогенитальном тракте женщин репродуктивного возраста как аэробные, так и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы могут быть причиной патологических процессов, своевременная коррекция выявленных нарушений вагинальной микробиоты может существенно улучшить качество жизни женщин, больных активными формами туберкулеза органов дыхания и получающих различные режимы химиотерапии в течение длительного времени.

Выводы

1. Женщины репродуктивного возраста, больные впервые выявленным туберкулезом органов дыхания и получающие длительные курсы химиотерапии, представляют собой группу риска по развитию вагинальных дисбактериозов.

2. Для объективной диагностики вагинальных дисбактериозов необходимо применять молекулярно – генетические методы исследования в виде ПЦР – реакции в режиме реального времени и количественным подсчетом условно – патогенных микроорганизмов.

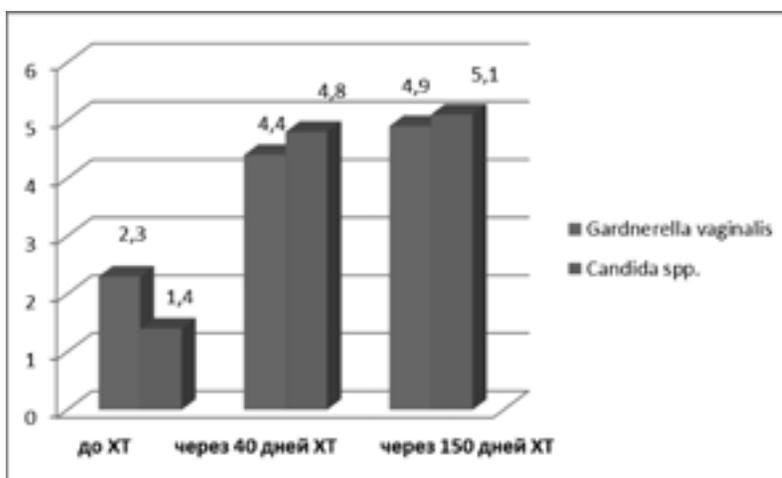


Диаграмма 2. Динамика повышения показателей вагинальной микробиоты у пациенток с ТОД через 40 и 150 дней химиотерапии.

3. При определении вида дисбаланса вагинальной микробиоты важно оценивать количественные изменения следующих микроорганизмов: *Lactobacillus*, *Streptococcus* spp., *Lachnobacterium* spp., *Megasphaera* spp., и *Peptostreptococcus* spp., *Gardnerella vaginalis* и *Candida* spp.

4. Лечение вагинальных дисбактериозов должно быть индивидуализированным в зависимости от имеющегося спектра условно – патогенных аэробных и анаэробных бактерий. ■

*Каюкова С.И., к.м.н.**, *Эргешов А.Э., д.м.н., профессор**, *Демихова О.В., д.м.н., профессор**, *Романов В.В., д.м.н., профессор**, *Лулуева Ж.С.**, *Багдасарян Т.Р., к.м.н.**, *Донников А.Е., к.м.н.*** Фтизиатрический отдел, ФГБНУ «Центральный научно – исследовательский институт туберкулеза», г. Москва, ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова», г. Москва; Автор, ответственный за переписку – Каюкова Светлана Ивановна, kajuko-valnp@gmail.com

Литература:

1. Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г., Чухриенко И.Ю., Мирзоянц М.А. урогенитальные инфекции, обусловленные условно-патогенной биотой, у женщин репродуктивного возраста (кли-нико-лабораторная диагностика). Учебное пособие. – Москва. – 2009. – 46с.
2. Adebayo OA, Adesanoye OA, Abolaji OA, Kehinde AO, Adaramoye OA. First-line antituberculosis drugs disrupt endocrine balance and induce ovarian and uterine oxidative stress in rats. // *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2018 Mar 28; 29(2):131-140. doi: 10.1515/jbcpp-2017-0087.
3. Bhagwan Sharma J, Sneha J, Singh UB, Kumar S, Kumar Roy K, Singh N, Dharmendra S, Sharma A, Sharma E. Effect of Antitubercular Therapy on Endometrial Function in Infertile Women with Female Genital Tuberculosis. // *Infect. Disord. Drug Targets*. 2016; 16(2):101-8.
4. Cartwright C.P, Pherson A.J, Harris A.B, Clancey M.S, Nye M.B. Multi-center study establishing the clinical validity of a nucleic-acid amplification-based assay for the diagnosis of bacterial vaginosis. // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 2018 Jun 1. pii: S0732-8893(18)30179-2. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.05.022.
5. Schnippel K, Firnhaber C, Page-Shipp L, Sinanovic E. Impact of adverse drug reactions on the incremental cost-effectiveness of bedaquiline for drug-resistant tuberculosis. // *Int. J. Tuberc. Lung Dis*. 2018 Aug 1; 22(8):918-925. doi: 10.5588/ijtld.17.0869.