

ВИЧ-инфекция, репродуктивный выбор и состояние биоценоза влагалища у беременных в I триместре

Ворошилина Е.С., к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава, г.Екатеринбург
Ежова С.А., врач акушер-гинеколог, Свердловский областной центр по профилактике и лечению ВИЧ-инфекции, г.Екатеринбург

Плотко Е.Э., к.м.н., главный врач, ООО Медико-фармацевтический центр «Гармония», г. Екатеринбург

Тумбинская Л.В., к.б.н., заместитель генерального директора по развитию, ЗАО «НПФ ДНК-Технология», г. Москва

Донников А.Е., к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических методов исследования, ФГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова, г.Москва

Хаяутин Л.В., заместитель директора, ООО Медико-фармацевтический центр «Гармония», г. Екатеринбург

HIV-infection, reproductive choice and vaginal biocenosis in first trimester

E.S. Voroshilina, S.A.Ezhova, E.E. Plotko, L.V. Tumbinskaya, A.E. Donnikov, L.V. Hayutin

Резюме

Исследовали биоценоз влагалища у 493 беременных женщин в I триместре беременности методом количественной ПЦР (Фемофлор, НПФ ДНК-Технология, Москва). В I группу вошли 303 ВИЧ-серонегативные пациентки с желанной беременностью, планировавшие ее вынашивание. II группу составили 127 ВИЧ-серонегативных пациенток с незапланированной беременностью, планировавшие ее прервать. В III группу вошли 62 ВИЧ-инфицированные женщины, у которых беременность не была запланирована. Установлено, что наибольшая частота тяжелых нарушений вагинальной микрофлоры по данным ПЦР-РВ наблюдалась у ВИЧ-инфицированных беременных. Выраженный анаэробный дисбаланс у ВИЧ-инфицированных женщин в большинстве случаев был связан с присутствием в диагностически значимых количествах *Atopobium vaginae*, что объясняет высокую частоту рецидивов бактериального вагиноза у этой категории пациенток. В группе ВИЧ-инфицированных женщин каждая третья беременная являлась носителем *Mycoplasma spp.* в количестве более 104 гз/мл. Субъективная и клиническая оценка состояния влагалища у обследованных беременных не соответствовали выявленным методом ПЦР-РВ нарушениям микрофлоры влагалища, причем наибольшие различия наблюдались в группе ВИЧ-инфицированных.

Ключевые слова: биоценоз влагалища, ВИЧ-инфекция, беременность, ПЦР в реальном времени.

Summary

Vaginal biocenosis of 493 pregnant women in I trimester was evaluated by means of quantitative real-time PCR (Femoflor, NPF DNA-Technology, Moscow). Structure of vaginal biocenosis during pregnancy was shown. Expressed dysbiosis of vaginal microflora was found more often in HIV-positive women. Anaerobic dysbiosis in HIV-positive women in the majority of cases was associated with *Atopobium vaginae*. *Mycoplasma spp.* in quantity more than 104 ge/ml was found in every third HIV-positive pregnant women.

Key words: vaginal biocenosis, HIV-infection, pregnancy, real-time PCR

В настоящее время Свердловская область занимает одно из первых мест по числу ВИЧ-положительных беременных в РФ [1]. Отличительной особенностью эпи-

демиологического процесса ВИЧ-инфекции на Урале является неуклонный рост числа женщин репродуктивного возраста – до 45% всех заразившихся. Растет количество ВИЧ-инфицированных женщин среди беременных, большинство из них останавливают свой репродуктивный выбор на вынашивании беременности. Как следствие возрастает удельный вес родов в этой группе.

Для большинства ВИЧ-инфицированных женщин беременность является незапланированной и нежеланной, эта категория пациенток не обращается к врачу с целью пред-

Ответственный за ведение переписки -
 Ворошилина Екатерина Сергеевна
 620026, Екатеринбург, ул. Тверитина 16.
 Тел. (343) 251-08-75,
 e-mail: voroshilina@gmail.com

гравидарной подготовки, санация половых путей до наступления беременности, как правило, не проводится. В то же время заболевания нижних отделов репродуктивной системы у ВИЧ-инфицированных женщин отличаются высокой частотой рецидивирующих форм бактериальных вагинозов и кандидозных вульвовагинитов, что способствует увеличению концентрации вируса во влагалищном отделяемом и увеличению риска перинатальной передачи ВИЧ при родоразрешении через естественные родовые пути [2]. Кроме того воспалительные заболевания влагалища являются фактором, увеличивающим риск развития воспалительных осложнений беременности, родов и послеродового периода. Таким образом женщины, у которых незапланированная беременность наступила на фоне сопутствующей ВИЧ-инфекции, оказываются группой повышенного риска по развитию инфекционных осложнений, и применение современных достоверных методов оценки вагинальной микрофлоры у них особенно оправдано.

Появление количественной ПЦР с детекцией результатов в реальном времени (ПЦР-РВ), позволяет произвести углубленное изучение качественного и количественного состава микрофлоры влагалища у женщин репродуктивного возраста.

Цель работы: сравнительный анализ состояния биоценоза влагалища методом ПЦР-РВ у беременных в I триместре в зависимости от репродуктивного выбора и наличия ВИЧ-инфекции.

Материалы и методы

В исследование были включены 493 женщины на сроках беременности от 5 до 14 недель. Все беременные были разделены на 3 группы. В I группу вошли 303 ВИЧ-серонегативных пациенток с желанной беременностью, планировавшие ее вынашивание. II группу составили 127 ВИЧ-серонегативных пациенток с незапланиро-

ванной беременностью, избравшие один из методов прерывания беременности – медикаментозный или хирургический. В III группу вошли 62 ВИЧ-инфицированные женщины, у которых беременность не была запланирована. Из них 33 пациентки сделали выбор в пользу вынашивания беременности, 29 – избрали прерывание. У 9 беременных III группы ВИЧ-инфекция была впервые выявлена во время настоящей беременности. Средний возраст женщин I группы составил $28,9 \pm 0,4$ лет, II группы – $27,7 \pm 0,7$ лет, III группы – $26,2 \pm 0,6$ лет и не имел существенных различий.

Всем беременным проводили стандартное клиническое обследование и дополнительное исследование биоценоза влагалища методом количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) реагентами «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-технология», Москва). Материал собирали с заднебоковой стенки влагалища на предметное стекло и в пробирку Эппендорф. Для исследования биоценоза влагалища выделяли ДНК с использованием набора реагентов «Проба-ГС», а ПЦР-РВ проводили в амплификаторе ДТ-96 согласно инструкции производителя (ООО «НПО ДНК-Технология»). После прохождения амплификации автоматически рассчитывалось общее количество бактериальной массы, лактобацилл и каждого из условно-патогенных микроорганизмов и по их соотношению определялось состояние микробиоценоза.

Набор реагентов Фемофлор включает смесь для ПЦР амплификации, специфичную для всех бактерий (для определения общей бактериальной массы), смесь, специфичную для лактобацилл и смеси, специфичные для условно-патогенных микроорганизмов (Таблица 1).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью свободно распространяемого программного продукта WINPEPI версии 9.7 и Statistica 7.0 для Windows.

Таблица 1. Состав комплектов реагентов «Фемофлор».

Группа	Определяемые показатели
Контроли	Контроль взятия материала
	Положительный контроль
	Внутренний контрольный образец
Диагностика нормоценоза	Общая бактериальная масса
	<i>Lactobacillus</i> spp. *
Аэробные микроорганизмы	Сем. <i>Enterobacteriaceae</i>
	<i>Streptococcus</i> spp.
(факультативные анаэробы)	<i>Staphylococcus</i> spp.
	<i>Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas</i> spp.
	<i>Eubacterium</i> spp.
	<i>Sneathia</i> spp./ <i>Leptotrichia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp.

Анаэробные микроорганизмы (строгие анаэробы)	Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.
	Eubacterium spp.
	Sneathia spp./Leptotrihia spp./Fusobacterium spp.
	Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.
	Lachnobacterium spp./ Clostridium spp.
	Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.
	Peptostreptococcus spp.
Atopobium vaginae	
Группа	Mycoplasma spp.
Микоплазм	Ureaplasma (U.urealyticum + U. parvum)
Грибы	Candida spp.

Таблица 2. Репродуктивный анамнез обследованных женщин

Паритет	I и более родов в анамнезе	Нерожавшие	
		Первобеременные	I и более искусственных или самопроизвольных абортов
I группа n=303	91 (30%)	170 (56%)	42 (14%)
II группа n=127	62 (49%)* I-II	47 (37%)* I-II	18 (14%)
III группа N=62	36 (58%)* I=4, II=12 I-III	15 (24%)	11 (18%)
Всего n=492	99(37,1%)	131(49,1%)	37(13,9%)

Примечание. * - уровень достоверности различий между группами $p < 0,01$

Результаты и обсуждение

Изучение репродуктивного анамнеза пациенток позволило выявить следующие особенности (Таблица 2). Доля первобеременных в I группе была существенно выше, чем во II и III (56%, 37% и 24%, соответственно). Предшествовавшие настоящей беременности аборты в целом имели 75 (24,7%) беременных I группы, в том числе самопроизвольные аборты и неразвивающуюся беременность 14 (4,8%). Аналогичные показатели для женщин II группы составили 56 (44,1%) и 9 (7,1%). В группе ВИЧ-инфицированных женщин аборты в анамнезе имели 43 (69,3%), в том числе самопроизвольные аборты и неразвивающуюся беременность – 21 (33,8%). Таким образом, ВИЧ-инфицированные женщины и женщины, планировавшие прерывание беременности, существенно чаще имели подобный опыт по сравнению с беременными I группы ($p < 0,01$). При этом у ВИЧ-инфицированных невынашивание беременности в анамнезе встречалось достоверно чаще, чем у женщин I и II групп ($p < 0,01$).

Анализ состояния здоровья изучаемых женщин показал, что более половины из них имели гинекологиче-

ские заболевания в анамнезе: доброкачественные заболевания шейки матки у 34,5%, 27,8% и 22,5%, воспалительные заболевания гениталий у 16,4%, 14,3% и 32,3%, инфекции, передающиеся половым путем, у 29,1%, 16,5% и 31,5% в I, II и III группах, соответственно.

При стандартном гинекологическом исследовании беременных I группы были диагностированы вагинит у 38 (12,6%), вагиноз у 14 (4,6%) пациенток, во II группе – у 31 (24,4%) и 7 (5,5%) соответственно. У ВИЧ-инфицированных беременных вагинит выявили у 14 (22,5%), вагиноз у 2 (3,2%) женщин. В целом, клинические признаки вагинита у женщин II и III групп встречались достоверно чаще ($p < 0,05$). Интересно, что жалобы, характерные для патологии влагалища (выделения, зуд, запах), предъявляли только 16,2% женщин I группы, 14,0% II группы и 16,1% – III группы. Таким образом, большинство женщин во всех трех группах считали себя здоровыми.

При углубленном исследовании микрофлоры влагалища методом ПЦР-РВ выделяли 4 варианта биоценоза в соответствии с предложенной ранее схемой [3]. Структу-

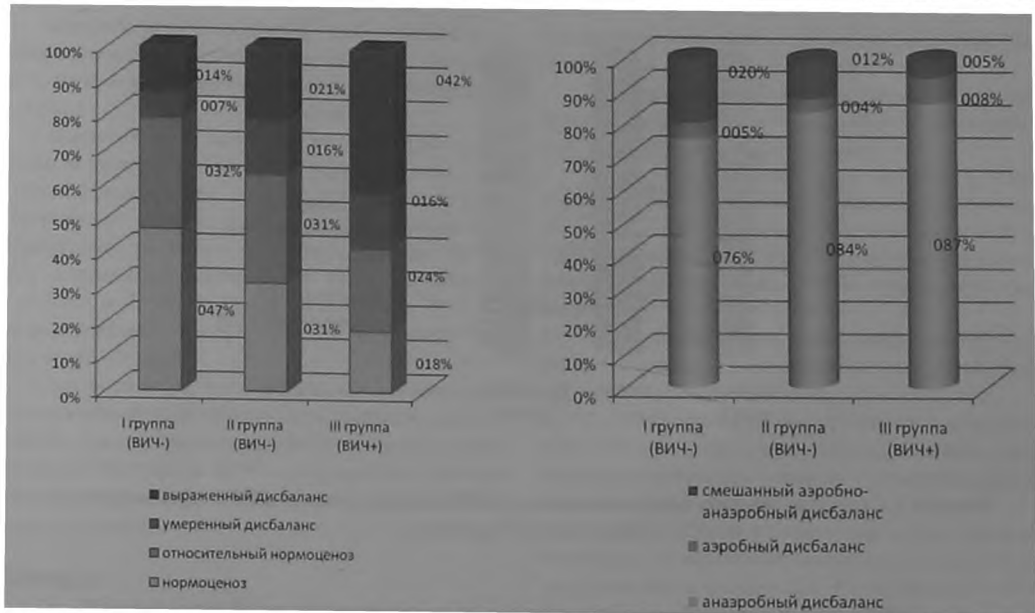


Рисунок 1. Структура биоценоза влагалища у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-серонегативных беременных в I триместре.

Рисунок 2. Структура выраженного дисбаланса вагинальной микрофлоры у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-серонегативных беременных в I триместре.

ра биоценоза влагалища у обследованных женщин представлена на Рисунке 1.

Нормоценоз достоверно чаще ($p < 0,01$) выявляли у женщин, планировавших беременность (I группа) – 46,9%, по сравнению с беременными II и III групп. Во II группе нормоценоз выявили у 31,3% пациенток, а в III группе – только у 17,7% обследованных. Таким образом, в группе ВИЧ-инфицированных женщин клиническая и субъективная оценка состояния влагалища в наибольшей степени не соответствовали состоянию биоценоза влагалища по результатам ПЦР-РВ.

Доля умеренного дисбаланса составила 7,26%, 15,75% и 16,13% в I, II и III групп соответственно, существенных достоверных отличий не выявлено, в то время как именно выраженные дисбиозы достоверно чаще описывали у беременных III группы по сравнению с I и II группами ($p < 0,001$). В структуре выраженных дисбиозов преобладали анаэробные процессы, причем доля их была несколько выше у женщин II и III групп (Рисунок 2). Этиологическая структура анаэробного дисбаланса отличалась у ВИЧ-положительных и ВИЧ-серонегативных беременных. У ВИЧ-положительных женщин с анаэробным дисбалансом в 91,67% случаев выявили *Atorobium vaginae* в диагностически значимых количествах, в то время как у ВИЧ-негативных женщин этот возбудитель при анаэробном дисбалансе встречался достоверно реже – в 58,82% случаев ($p < 0,05$). Учитывая устойчивость *A.vaginae* к препаратам метронидазола [4], традиционно используемым для лечения бактериального вагиноза, становится понятным высокая частота рецидивов заболевания у женщин с ВИЧ-инфекцией. В целом варианты биоценоза со сниженным количеством нормофлоры

(умеренные и выраженные дисбиозы) достоверно чаще ($p < 0,01$) выявляли у ВИЧ-инфицированных беременных.

Доля относительного нормоценоза у ВИЧ-отрицательных беременных не зависела от репродуктивного выбора женщины и составила 32,3% и 31,5% в I и II группах соответственно. У ВИЧ-положительных женщин относительный нормоценоз выявляли несколько реже – в 24,2% случаев, однако статистически достоверных отличий с другими группами не установлено. В целом доля биоценозов с сохраненным количеством нормофлоры (абсолютный и относительный нормоценоз) была достоверно меньше у ВИЧ-инфицированных женщин ($p < 0,01$) по сравнению с ВИЧ-отрицательными. Структура относительного нормоценоза у обследованных беременных представлена на Рисунке 3. Достоверной разницы в структуре относительного нормоценоза у беременных разных групп не выявили, однако отметили, что у ВИЧ-инфицированных женщин этот вариант биоценоза чаще связан со смешанной микоплазменно-грибковой инфекцией.

Была проведена оценка роли микоплазм (Таблица 3) и уреаллазм (Таблица 4) в формировании биоценоза влагалища у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-серонегативных беременных. Установлено, что анаэробный дисбаланс в присутствии как микоплазм, так и уреаллазм в количестве более 104 гз/мл встречался достоверно чаще во II и III группах беременных. Причем если доля анаэробных дисбалансов в сочетании с уреаллазменной инфекцией у женщин II и III групп не различалась, то микоплазменную инфекцию на фоне анаэробного дисбаланса чаще выявляли у ВИЧ-инфицированных беременных – 24,2% в III группе против 14,0% во II группе ($p < 0,001$).

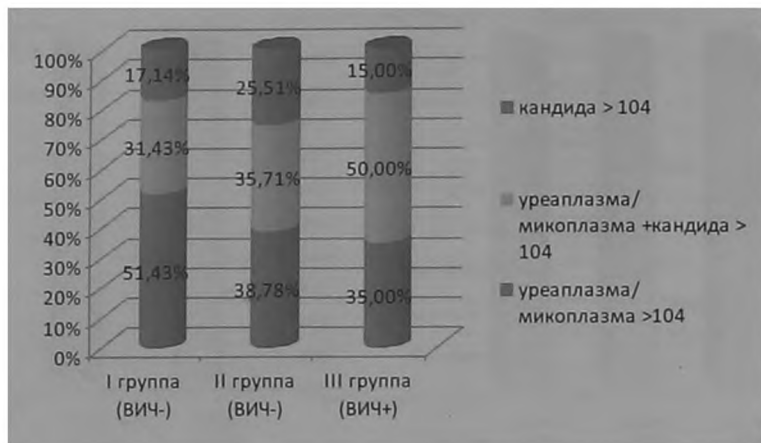


Рисунок 3. Структура относительного нормоценоза у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-серонегативных беременных в I триместре.

Таблица 3. Варианты биоценоза влагалища, ассоциированные с микоплазмами

Вариант биоценоза	Анаэробы <10% Микоплазма > 10 ⁴	Анаэробы > 10% Микоплазма > 10 ⁴	Анаэробы > 10% Микоплазма <10 ⁴	Анаэробы < 10% Микоплазма <10 ⁴
I группа n=303	5(1,8%)	2(0,6%)	36(11,9%)	200 (85,7%)
II группа n=127	6(5,0%)	18(14,0%) *(I-II)	20 (16,0%)	83 (65,0%) *(I-II)
III группа n=62	7 (11,2%) ** (I-III)	15(24,2%) *(I-III)	6(9,6%)	34(55,0%)

Примечание. * - уровень достоверности различий между группами $p < 0,001$, ** - $p < 0,01$

Таблица 4. Варианты биоценоза влагалища, ассоциированные с уреоплазмами

Вариант биоценоза	Анаэробы <10% Уреаплазма > 10 ⁴	Анаэробы > 10% Уреаплазма > 10 ⁴	Анаэробы > 10% Уреаплазма <10 ⁴	Анаэробы < 10% Уреаплазма <10 ⁴
I группа n=303	67(22,2%)	16(5,3%)	20(6,6%)	200(65,9%)
II группа n=127	33(25,9%)	22(17,3%) *(I-II)	16(12,6%)	56(44,2%) *(I-II)
III группа n=62	22 (35,4%) ** (I-III)	10(16,1%) ** (I-III)	11(17,7%) ** (I-III)	19 (30,8%) *(I-III)

Примечание. * - уровень достоверности различий между группами $p < 0,001$, ** - $p < 0,05$

Относительный нормоценоз, ассоциированный с *Ureaplasma* spp. в количестве более 104 гз/мл, достоверно чаще выявляли у ВИЧ-инфицированных беременных ($p < 0,05$).

Напротив, нормоценоз при низких титрах микоплазм и уреоплазм был более характерен для женщин, планировавших вынашивание беременности. Полученные данные демонстрируют возможность присутствия уреоплазм в диагностических титрах при сохраненной лактофлоре у 22,2% беременных I группы и 25,9% беременных II группы. У ВИЧ-инфицированных беременных этот показатель был еще выше – 35,4%.

Несмотря на то, что частота выделения микоплазм из влагалищной микрофлоры во всех группах была существенно ниже, чем уреоплазм, у ВИЧ-положительных беременных *Mycoplasma* spp. в количестве более 104 гз/мл обнаруживали в 35,4% случаев против 2,4% и 19% в I и II группах соответственно.

Выводы

1. Выраженные дисбиозы вагинальной микрофлоры у женщин с планируемой беременностью встреча-

лись достоверно реже, чем у пациенток с нежеланной беременностью.

2. Наибольшая частота выраженных нарушений микрофлоры влагалища по данным ПЦР-РВ наблюдалась у ВИЧ-инфицированных беременных.

3. Выраженный анаэробный дисбаланс у ВИЧ-инфицированных женщин в большинстве случаев был связан с присутствием в диагностически значимых количествах *Atopobium vaginae*, что объясняет высокую частоту рецидивов бактериального вагиноза у этой категории пациенток.

4. В группе ВИЧ-инфицированных женщин каждая третья беременная являлась носителем *Mycoplasma* spp. в количестве более 104 гз/мл.

5. *Ureaplasma* spp. и *Mycoplasma* spp. в количестве более 104 гз/мл на фоне выраженного дисбаланса достоверно чаще встречались у женщин с незапланированной беременностью.

6. Субъективная и клиническая оценка состояния влагалища у обследованных беременных не соответствовали выявленным методом ПЦР-РВ нарушениям микрофлоры влагалища, причем наибольшие различия наблюдались в группе ВИЧ-инфицированных. ■

Литература:

1. Шарапова О.В., Чумакова О.В., Садовникова В.Н. О профилактике перинатальной передачи ВИЧ-инфекции в Российской Федерации. Методическое письмо: Департамент медико-социальных проблем семьи, материнства и детства МЗ СР РФ, 2008 г.
2. Spear G., St John E., Zariffard M. Bacterial vaginosis and human immunodeficiency virus infection. *AIDS Research and Therapy*. 2007, 4: 25.
3. Воронилкина Е.С., Тумбинская Л.В., Доняков А.Е., Плотко Е.Э., Хаютия Л.В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: состояние во время беременности. *Уральский медицинский журнал* 2010; 3: 103-107.
4. Backer E., Verhelst R., Verstraelen H., Claeys G., Verschaegen G., Temmerman M. Antibiotic susceptibility of *Atopobium vaginae*. *BMC Infectious Diseases*. 2006, 6: 51.