

Репродуктивное поведение женщины и состояние биоценоза влагалища

Е.Э. Плотко - к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета ГОУ ВПО УГМА Росздрава, главный врач медицинского центра «Гармония», г. Екатеринбург

Е.С. Ворошилина - к.м.н., доцент кафедры микробиологии вирусологии и иммунологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава, зав. лабораторией медицинского центра «Гармония», г. Екатеринбург

Л.В. Хаютин – врач акушер- гинеколог медицинского центра «Гармония», зам. директора по медицинским технологиям, г. Екатеринбург

Е.И. Абакумова – врач акушер-гинеколог, зав. отделением медицинского центра «Гармония», г. Екатеринбург

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

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

Reproductive behavior of women and state of vaginal biocenosis

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

Резюме

Проведено клиничко-лабораторное обследование 267 беременных на сроках от 5 до 12 недель. Первую группу составили 167 женщин, вынашивающих беременность, вторую - 100 женщин, планировавших искусственный аборт. Приведены данные репродуктивного анамнеза, дана сравнительная оценка состояния нижних отделов гениталий на основании клинических данных, микроскопии мазков и исследования биоценоза влагалища методом ПЦР в реальном времени. Обнаружено, что 75% беременных имеют различные нарушения микрофлоры влагалища у обследованных женщин, продемонстрирована роль генитальных микоплазм в их формировании. Показана более высокая частота развития анаэробного дисбаланса в группе женщин с нежеланной беременностью и влияние репродуктивного поведения на состояние биоценоза влагалища.

Ключевые слова: биоценоз влагалища, беременность, прерывание беременности, ПЦР в реальном времени.

Resume

Resume

Genital microbiocenosis of 267 pregnant women in first trimester has been examined with real-time polymerase chain reaction. Their reproductive anamnesis, clinical and laboratory data are presented. 75% of women demonstrated different variants of vaginal disbiosis. The correlation between their reproductive behavior and vaginal microbiocenosis is shown.

Key words: vaginal biocenosis, pregnancy

Введение

Проблема инфекционно-воспалительных заболеваний в гинекологии и акушерстве по-прежнему остается актуальной. Ведущая роль в их развитии принадлежит бактериальным инфекциям влагалища, частота которых в популяции варьирует от 30 до 80% (6). На фоне увеличения сексуально-трансмиссивных заболеваний, неблагоприятных экологических воздействий, изменения характера сексуального и репродуктивного поведения, нерациональной антибиотикотерапии, наблюдается рост числа заболеваний с участием микроорганизмов из состава нормальной микрофлоры влагалища (7, 8). Нарушения биоценоза влагалища уже в первом триместре беременности могут приводить к развитию вос-

палительных заболеваний нижних отделов гениталий, бактериального вагиноза, влияя на частоту развития различных осложнений со стороны фетоплацентарного комплекса, включая невынашивание беременности (3, 5). Генитальные инфекции рассматриваются также, как один из значимых факторов риска осложнений искусственного прерывания беременности, в частности послеабортного эндометрита, особенно в группе первобеременных (1, 2, 4).

Вопросы адекватной оценки состояния влагалищной микрофлоры у беременной женщины, определение необходимости санации или коррекции биоценоза, профилактики инфекционных осложнений требуют дальнейшего изучения. Однако, применяемые сегодня способы оценки состояния биоценоза влагалища, такие как клинические, микроскопические и бактериологические, являются либо недостаточно информативными, либо дорогостоящими. Не всегда удается идентифицировать этиологически значимые условно-патогенные микроорга-

Ответственный за ведение переписки -

Плотко Евгений Эдуардович

620026, Екатеринбург, ул. Тверитина 16,

Тел. (343) 354-67-18, e-mail: plotko@ogarmonia-mc.ru

низмы, в частности анаэробы, генитальные микоплазмы и уреоплазмы, а их выделение еще не является доказательством их этиологической роли (9). Только учет количественных соотношений отдельных видов микроорганизмов может характеризовать состояние вагинального биоценоза и степень его нарушения, выработать правильный клинический подход, направленный на профилактику инфекционно-воспалительных осложнений, связанных с беременностью.

Цель работы: провести углубленное исследование биоценоза влагалища методом ПЦР в реальном времени у беременных в первом триместре, оценить влияние репродуктивного поведения женщин на состояние микрофлоры влагалища.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 267 женщин на сроках беременности от 5 до 12 недель. Все беременные были разделены на 2 группы. В первую группу вошли 167 пациенток с желанной беременностью, планировавшие ее вынашивание. Вторую группу составили 100 пациенток с непланируемой беременностью, избравшие один из методов прерывания беременности – медикаментозный или хирургический.

Всем беременным проводили стандартное клинико-лабораторное обследование, включавшее микроскопическое исследование вагинального отделяемо-

го и дополнительное исследование биоценоза влагалища методом ПЦР в реальном времени реагентами «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-технология», Москва). Материал собирали с заднебоковой стенки влагалища на предметное стекло и в пробирку Эппендорф. Осуществляли микроскопию препаратов, окрашенных метиленовым синим при увеличении $\times 1000$. При этом оценивали количество лейкоцитов и характер микрофлоры по морфологическим особенностям. Для исследования биоценоза влагалища выделяли ДНК с использованием набора реагентов «Проба-ГС», а ПЦР в реальном времени 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 (табл. 1).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью свободного 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
	Lactobacillus spp. *
Аэробные микроорганизмы (факультативные анаэробы)	Сем. Enterobacteriaceae
	Streptococcus spp.
	Staphylococcus spp.
Анаэробные микроорганизмы (строгие анаэробы)	Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.
	Eubacterium spp.
	Sneathia spp./Leptotrichia spp./Fusobacterium spp.
	Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.
	Lachnobacterium spp./Clostridium spp.
	Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.
	Peptostreptococcus spp.
Atopobium vaginae	
Группа Микоплазм	Mycoplasma spp.
	Ureaplasma (U. urealyticum + U. parvum)
Грибы	Candida spp.

Примечание: * под spp. подразумевается широкая группа микроорганизмов, значимая для диагностики дисбиоза, которая относится к данному роду, но может не соответствовать полностью роду в его систематическом понимании.

Результаты и их обсуждение

Средний возраст женщин первой группы составил $28,9 \pm 0,4$ лет, второй – $27,7 \pm 0,7$ лет и не имел существенных различий. Семейный статус пациенток характеризовался преобладанием зарегистрированных брачных отношений в I группе по сравнению со II группой – 93,4% и 65% соответственно ($p < 0,001$).

Изучение репродуктивного анамнеза пациенток позволило выявить следующие особенности (табл. 2).

Доля первобеременных в I группе была существенно выше, чем во II (56,3% и 37% соответственно), при этом рожавшие женщины составили ее половину (49%). Абдоминальное родоразрешение в анамнезе отмечено у 11 (6,6%) и 9 (9%) женщин I и II групп соответственно. Предшествовавшие настоящей беременности аборт в целом имела 41 (24,6%) беременная первой группы, в том числе самопроизвольные аборты и неразвивающуюся беременность 8 (4,8%). Аналогичные показатели для женщин второй группы составили 44 (44%) и 7(7%). Таким образом, женщины, планировавшие прерывание беременности существенно чаще имели подобный опыт по сравнению с беременными первой группы ($p < 0,01$).

Анализ состояния здоровья изучаемых женщин показал, что более половины из них имели гинекологические заболевания в анамнезе: доброкачественные заболевания шейки матки у 34,5% и 27,8%, воспалительные заболевания гениталий у 16,4% и 14,3%, ИППП у 29,1% и 16,5% в I и II группах соответственно.

Мы провели сравнительный анализ результатов оценки состояния влагалища и его микрофлоры на основании клинических исследований, микроскопического метода и ПЦР с помощью диагностической системы «Фе-

мофлор». При стандартном гинекологическом исследовании беременных I группы были диагностированы вагинит у 21 (12,6%), вагиноз у 8(4,8%) женщины, во II группе у 25 (25%) и 6 (6%) соответственно. В целом, клинические данные свидетельствовали о более частых нарушениях в состоянии влагалища и его микрофлоры у женщин с нежеланной беременностью ($p < 0,05$). Интересно, что жалобы на бели предъявляли 27 (16,2%) беременных первой и 14(14%) беременных второй группы, то есть субъективная оценка женщиной своего состояния наиболее существенно расходилась с данными осмотра врача у беременных, планирующих аборт.

Результаты микроскопического исследования влагалищного отделяемого в зависимости от количества лейкоцитов и характера микрофлоры были разделены на 4 типа (табл. 3). При этом количество лейкоцитов до 15 в поле зрения считали нормальным, а его превышение расценивали как признак воспаления.

Таким образом, отсутствие признаков воспаления и нормальное состояние микрофлоры влагалища по данным микроскопии зарегистрировано лишь у 56,3% беременных первой группы и 48% - второй, что не соответствовало клиническим оценкам «норма» - 82,6% и 69% в I и II группах соответственно. Полученные данные также существенно расходились с субъективной оценкой беременных. Наибольшие трудности, по нашему мнению, вызывает интерпретация данных микроскопии III типа, когда при нормальном количестве лейкоцитов наблюдается дисбиотический характер микрофлоры влагалища: кокковая или смешанная флора, отсутствие флоры, дрожжи. Такое состояние биоценоза наблюдалось практически у каждой третьей обследованной беременной, что потре-

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=167	50(29,9%)	94(56,3%)	23(13,8%)
II группа n=100	49(49%)*	37(37%)*	14(14%)
Всего n=267	99(37,1%)	131(49,1%)	37(13,9%)

Таблица 3. Результаты микроскопического исследования влагалищного отделяемого

Группы обследованных	Типы мазка			
	I тип Лейкоциты <15 Флора - палочки Норма	II тип Лейкоциты <15 «Ключевые» клетки Бак. вагиноз	III тип Лейкоциты <15 Дисбиотический тип флоры «Серая» зона	IV тип Лейкоциты >15 Дисбиотический вариант флоры Вагинит
I группа n=167	94(56,3%)	5(3,0%)	50(29,9%)	18(10,8%)
II группа n=100	48(48,0%)	5(5,0%)	33(33,0%)	14(14,0%)
Всего n=267	142(53,2%)	10(3,7,4%)	83(31,0%)	32(21,6%)

Таблица 4. Характер биоценоза влагалища у беременных

Тип биоценоза	I группа n=167	II группа n=100	Всего n=267
Нормоценоз	44(26,3%)	22(22,0%)	66(24,7%)
Относительный нормоценоз	94(56,3%)	52(52,0%)	146(54,7%)
Анаэробный дисбаланс	12(7,2%)	15(15,0%)*	27(10,1%)
Аэробный дисбаланс	1 (0,6%)	0	1 (0,4%)
Умеренный анаэробный дисбаланс	14(8,3%)	11(11,0%)	25(9,4%)
Умеренный аэробный дисбаланс	2 (1,3%)	0	2 (0,8%)

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

Таблица 5. 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=167	3(1,8%)	1(0,6%)	20(11,9%)	143(85,7%)
II группа n=100	5(5,0%)	14(14,0%)*	16(16,0%)	65(65,0%)*
Всего n=267	8 (3,0%)	15(5,6%)	36(13,5%)	208(77,9%)

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

Таблица 6. Варианты биоценоза влагалища, ассоциированные с уреаплазмами

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=167	37(22,2%)	9(5,3%)	11(6,6%)	111(65,9%)
II группа n=100	26(26,0%)	17(17,0%)*	13(13,0%)	44(44,0%)*
Всего n=267	63 (23,6%)	26(9,7%)	24(9,0%)	155(58,1%)

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

бывало применения более информативных методов исследования.

Для углубленного исследования состояния биоценоза влагалища у беременных обеих групп мы использовали диагностическую систему «Фемофлор». Выделено 6 типов биоценоза влагалища (табл. 4). Состояние нормоценоза влагалища (доля лактофлоры превышает 80%) определено лишь у 26,3% беременных первой группы и 22% - второй. Существенные различия между группами обнаружены в частоте анаэробного дисбаланса, который вдвое чаще определялся у беременных, планирующих искусственный аборт.

Более чем у половины обследованных беременных в обеих группах определялся относительный нормоценоз - это вариант биоценоза влагалища, при котором на фоне сохраненной лактофлоры выявлены в диагностическом титре 10⁴ геном-эквивалентов (ГЭ) условно-патогенные микроорганизмы, такие как *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma* spp., *Candida* spp.. Кандида не вступает в конкуренцию с лактобактериями, поэтому, даже обнаруживаясь в титрах существенно выше диагностических, не оказывает влияния на количество нормофлоры. Поэтому нами предпринята попытка оценить роль микоплазм (табл. 5) и уреаплазм (табл. 6) в формировании биоценоза влагалища у

беременных. Показано, что анаэробный дисбаланс (бактериальная масса анаэробов превышает 10%) в присутствии диагностических титров как микоплазм, так и уреаплазм встречался достоверно чаще в группе женщин с нежеланной беременностью.

Напротив, нормоценоз при низких титрах микоплазм и уреаплазм был более характерен для женщин, планировавших вынашивание беременности.

В целом, нами выявлено 3 варианта дисбиоза влагалища у беременных с участием микоплазм и уреаплазм. При этом частота выделения микоплазм из влагалищной микрофлоры была существенно ниже, чем уреаплазм.

Полученные данные демонстрируют возможность присутствия уреаплазм в диагностических титрах у 2% беременных I группы и 37% беременных II группы с сохраненной лактофлорой. При анализе биоценоза влагалища у обследованных обеих групп было установлено, что высокие титры уреаплазм (более 10⁴) достоверно сопряжены со снижением доли лактофлоры менее 20% от общей бактериальной массы.

Мы провели анализ состояния микрофлоры влагалища в зависимости от репродуктивного анамнеза. Значимым фактором, оказывающим влияние на формирование биоценоза влагалища беременных в обеих груп-

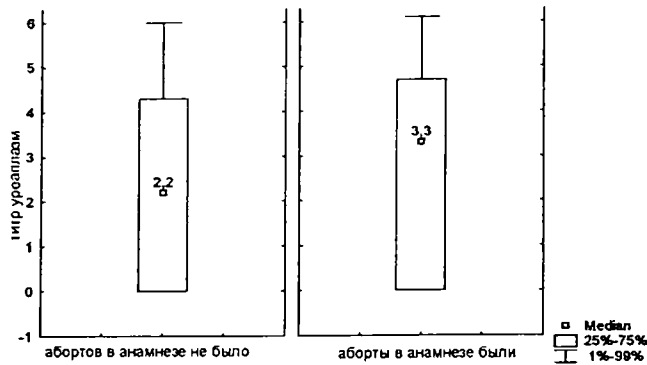


Рисунок 1. Количественная оценка содержания уреоплазм в биоценозе влагалища

пах оказался опыт искусственных абортов, предшествовавших настоящей беременности. Были обнаружено, что нормоценоз на фоне низких титров уреоплазм встречается у 49,3% у беременных, имевших в анамнезе аборты против 62,8% женщин, не прерывавших беременность ($p < 0,05$). Кроме того, в группе женщин, имевших аборты в анамнезе, выявляемые титры уреоплазм оказались выше (до 104,6) по сравнению с группой женщин, не подвергавшихся абортam (до 104,2), а медиана больше на порядок (103,3 и 102,2 соответственно), (рис.1).

Напротив, дисбиотические нарушения урогенитального тракта, не сопряженного с уреоплазмами, более характерны для женщин с искусственными абортam в анамнезе. В то же время, частота обнаружения дисбиоза влагалища на фоне высоких титров уреоплазм не зависела от данного анамнестического фактора.

Выводы

1. Использование ПЦР в реальном времени позволило установить, что 75% беременных на сроках от 5 до 12 недель имели те или иные нарушения биоценоза влагалища.

2. Требуется дальнейшее изучение вопроса о клинической интерпретации состояния относительного нормоценоза у беременных.

3. В структуре нарушений биоценозов урогенитального тракта у беременных основную роль играют анаэробные микроорганизмы, в том числе с участием уреоплазм и микоплазм. Аэробные дисбиозы в чистом виде наблюдали только в I случае.

4. Анаэробный дисбаланс достоверно чаще регистрировался у женщин с нежеланной беременностью, планировавших ее прерывание.

5. Искусственный аборт в анамнезе является прогностическим фактором нарушения биоценоза влагалища с преимущественным анаэробным дисбалансом.

6. Применение углубленных методов диагностики, а именно ПЦР в реальном времени, позволяет более точно оценить систему биоценоза влагалища и оптимизировать мероприятия по профилактике осложнений, связанных как с вынашиванием беременности, так и с ее прерыванием. ■

Литература:

- Абрамченко В.В., Гусева Е.Н. Медикаментозный аборт: Руководство для врачей. - СПб: «ЭЛБИ-СПБ»; 2005.
- Безопасный аборт: Рекомендации для систем здравоохранения по вопросам политики и практики. ВОЗ; 2004.
- Ранние сроки беременности. Под ред. В.Е. Радзинского, А.А. Оразмурадова. М.: Status Praesens; 2009.
- Трубина Т.Б. Профилактика и лечение инфекционных осложнений медицинского аборта в I и II триместре: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Казань; 2000.
- Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз.- СПб: «Нева-Люкс»; 2001.
- Кира Е.Ф. Клиника и диагностика бактериального вагиноза. Акушерство и гинекология 1994; 2: 32-35.
- Стрижаков А.Н., Давыдов А.И., Баев О.Р., Буданов П.В. Генитальные инфекции. М.: Издательский дом "Династия"; 2003.
- Буданов П.В., Баев О.Р., Пашков В.М. Нарушения микроценоза влагалища. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии 2005; 4(2): 78-88.
- Leitch H, Bodner-Adler B., Brunbauer M. et al. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. Am J Obstet Gynecol. 2003; 189 (1): 139-47.