

Стан мікробіоценозу статевих шляхів у обстежених вагітних після екстракорпорального запліднення методом ІКСІ

Л.Є. Туманова, О.О. Молчанова

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ

У статті наведено результати мікробіологічного дослідження урогенітального тракту, обстеження на урогенітальну та TORCH-інфекцію у жінок після екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) методом ІКСІ. Проведений аналіз засвідчив, що частота висівання патогенної мікрофлори у жінок після ЕКЗ методом ІКСІ значно менше, ніж у групі контролю, що пов'язано з тим, що перед ЕКЗ методом ІКСІ вони проходили обстеження і лікування. Різниця в показниках при дослідженнях на TORCH-інфекцію у вагітних обстежуваних груп не знайдено.

Ключові слова: допоміжні репродуктивні технології, TORCH-інфекції, безпліддя, урогенітальна інфекція, антитіла, умовно-патогенна флора.

Завдяки застосуванню методу екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) у світі вже народилося більше 3 000 000 дітей [1–2]. Перебіг вагітностей, що наступили як результат лікування безплідності внаслідок застосування допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ), має свої особливості. Важливим є той факт, що до моменту настання вагітності пацієнтки, як правило, перебувають у віці понад 30 років, мають обтяжений акушерсько-гінекологічний анамнез і супутні соматичні захворювання. Раніше вони тривало й безуспішно лікувалися з приводу безпліддя, нерідко мають ендокринні порушення або виражені анатомічні зміни органів малого таза. Різноманітність зазначених факторів, безумовно, впливає на характер і частоту ускладнень вагітності й пологів, підвищуючи ризик виникнення акушерської та перинатальної патології [3–11].

Значна поширеність TORCH-інфекцій, її значення в структурі перинатальної смертності диктують необхідність пошуку нових підходів у діагностиці цієї патології та створення системи профілактичних заходів. Має значення не тільки діагностика даного захворювання, але й можливість його передбачення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Нами було проведено комплексне клініко-лабораторне дослідження 151 вагітних жінок. Контрольну групу (КГ) склали 31 вагітна, які були розроджені через природні родові шляхи без соматичної та гінекологічної патології. Критерієм включення пацієнток у дослідження була наявність вагітності після екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) методом ІКСІ. Ці жінки склали I групу – 40 вагітних жінок з наявністю чоловічого фактора безпліддя, II групу – 80 вагітних жінок з наявністю чоловічого та жіночого (трубно-перитонеального) фактора безпліддя. Усі вагітні I та II груп були обстежені за запропонованою нами схемою і отримували медикаментозну корекцію протягом вагітності за загальноприйнятими методами.

З метою виключення інфекційного фактора як чинника переривання вагітності всім пацієнткам досліджуваних груп проводили мікробіологічне дослідження урогенітального тракту, обстеження на урогенітальну інфекцію. Також проводили обстеження на TORCH-інфікування.

У мікробіологічному дослідженні для діагностики TORCH-інфекції використовували метод імуноферментного аналізу (ІФА).

Визначення IgG- і IgM-антитіл до токсоплазми, цитомегаловірусу (ЦМВ), герпесу і краснухи проводили шляхом твердофазного імуноферментного сандвіч-аналізу із використанням стандартних наборів моноклональних антитіл фірми Abbott (США). Принцип методу заснований на тому, що на внутрішній поверхні лунок для мікротитрування (що відіграють роль твердої фази) імібілізовані специфічні антигени. Присутні у зразку сироватки специфічні антитіла IgG або IgM зв'язуються з антигеном на стінках лунок. Незв'язаний матеріал видаляється промиванням. Додають кролячі антитіла проти IgG або IgM людини, кон'юговані з пероксидазою хрому. У результаті утворюється сандвіч, наприклад для IgG проти HSV2-Ag.

Таблиця 1

Стан мікробіоценозу піхви, абс. число (%)

| Показник | Групи жінок | | |
|------------------------|-------------|---------------|----------------|
| | КГ, n=31 | I група, n=40 | II група, n=80 |
| Лактобацили | 29 (93,5) | 37 (92,5) | 75 (93,7) |
| Біфідобактерії | 24 (77,4) | 30 (75,0) | 61 (76,2) |
| E.coli | 4 (12,9) | 3 (7,5) * | 7 (8,7) * |
| Гриби роду Candida | 5 (16,1) | 4 (10,0) * | 9 (11,3) * |
| Staphylococcus | 3 (9,6) | 2 (5,0) * | 5 (6,2) * |
| Mycoplasma hominis | - | 1 (2,5) | 2 (2,5) |
| Ureaplasma urealiticum | 4 (12,9) | - | - |
| Chlamidia thrachomatis | 2 (6,5) | - | - |

Примітка: * – різниця достовірна відносно показників КГ: p<0,05.

Позитивні рівні антитіл IgG та IgM в обстежених вагітних, абс. число (%)

| Показник | | Групи жінок | | |
|------------|-----|-------------|---------------|----------------|
| | | КГ, n=31 | I група, n=40 | II група, n=80 |
| Toxoplasma | IgG | 8 (25,8) | 9 (22,5) | 16 (20,0) |
| | IgM | - | - | - |
| ВПГ-I | IgG | 21 (67,7) | 25 (62,5) | 46 (57,5) |
| | IgM | - | - | - |
| ВПГ-II | IgG | 6 (12,9) | 7 (17,5) * | 15 (18,7)* |
| | IgM | - | - | 1 (1,3) |
| ЦМВ | IgG | 19 (61,2) | 27 (67,5) | 59 (73,7) * |
| | IgM | - | - | - |

Примітка: * – різниця достовірна відносно показників КГ: $p < 0,05$.

Після другого промивання, що видаляє незв'язаний кон'югат, визначали активність пероксидази, яка іммобілізована на стінках лунки шляхом інкубації з субстратом (тетраметилбензидином). Синій колір, що утворюється у присутності позначеного ферментом імунного комплексу, переходить у жовтий після додавання сірчаної кислоти, яка зупиняє реакцію. Інтенсивність жовтого фарбування пов'язана з кількістю специфічних антитіл IgG або IgM у досліджуваному зразку. Значення поглинання досліджуваних зразків сироватки порівнювали з такими в контролі (cut-off control value, COV). Поглинання вимірювали при 450 нм на ридері для мікропланшетів. Результати аналізу вважали позитивними, якщо поглинання зразка (A_{450}) > COV.

Мікроскопічні методи дослідження включали світлову та люмінесцентну мікроскопію одержаного матеріалу. З метою діагностики гонорейної, трихомонадної, хламідійної, мікоплазмової, уреаплазмової інфекції та визначення антибіотикочутливості використовували метод ІФА, полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати мікробіологічного дослідження представлені в табл. 1.

Результати дослідження свідчать, що у вагітних усіх груп переважали два види мікроорганізмів: лактобацили – 93,5%, 92,5%, 93,7% та біфідобактерії – 77,4%, 75,0%, 76,2% відповідно. У групах вагітних після ЕКЗ методом ІКСІ відзначали незначний відсоток виявлення мікоплазми та умовно-патогенної флори (*E.coli*, *Staph.sapr.*, гриби роду *Candida*), який був достовірно нижче порівняно з КГ (I група – 7,5%, 5,0%, 10,0% відповідно; II група – 8,7%, 6,2%, 11,3% проти 12,9%, 9,6%, 16,1% відповідно в КГ; $p < 0,05$). Це пов'язано з тим, що при обстеженні перед ЕКЗ методом ІКСІ при виявленні інфекції уrogenітального тракту пацієнтки пройшли курс лікування. У КГ відсоток інфікованих жінок був достовірно вищий.

Беручи до уваги велике значення, яке приділяється в останні роки наявності TORCH-інфікування в генезі акушерської і перинатальної патології, усім жінкам, які підлягали спостереженню, ще на етапі відбору та формування груп за допомогою ІФА встановлювали наявність антитіл класів IgG та IgM до токсоплазми, краснухи, ЦМВ та вірусу простого герпесу I (ВПГ-I) та II (ВПГ-II) типів (табл. 2).

Нами було проведено обстеження вагітних усіх груп на наявність специфічних антитіл IgG і IgM до токсоплазми. Під час аналізу результатів обстеження з'ясовано, що більшість обстежених вагітних первинно не були інфіковані. Зі 151 обстеженої вагітної на наявність антитіл IgG було виявлено 33 серопозитивних (I група – 22,5%; II група – 20,0%; КГ – 25,8%).

Серед обстежених частіше виявляли середні та низькі рівні антитіл, ніж високі. У зв'язку з низькою інформативністю діагностичних рівнів антитіл IgG для встановлення стадії інфекційного процесу у всіх серопозитивних вагітних проводили дослідження на антитіла класів IgM. У всіх обстежених рівень антитіл був негативний. За серонегативними вагітними був встановлений імунологічний моніторинг з динамічним визначенням антитіл класів IgG та IgM. У жодному випадку не було виявлено сероконверсії.

Проведені дослідження з виявлення інфікованості вагітних ВПГ-I та ВПГ-II. Під час обстеження вагітних на серологічні маркери (специфічні антитіла IgG до ВПГ-I і ВПГ-II) встановлено, що середній показник інфікованості ВПГ-I в обстежених I групи дорівнював 62,5%, II групи – 57,5%, КГ – 67,7% (див. табл. 2). Рівень інфікованості ВПГ-II в досліджуваних групах був достовірно вище у I та II групі вагітних і складав 17,5% і 18,7% відповідно 12,9% у вагітних КГ; $p < 0,05$. Окрім обстеження на наявність IgG до ВПГ-I та ВПГ-II було проаналізовано наявність антигерпетичних IgM у всіх групах дослідження. Активації герпесвірусної інфекції або первинного інфікування за період спостереження вагітних не було. В одній вагітній II групи при дослідженні було виявлено позитивний рівень IgM, який склав 16,44. Вагітна була дообстежена методом ПЛР – діагноз не підтвердився.

Під час тестування на специфічні антитіла класу IgG до ЦМВ всіх вагітних було виявлено інфікування. Діагностичні рівні антитіл до ЦМВ класу IgG були виявлені також у більшій кількості обстежених. Як видно з табл. 2, у 105 (69,5%) вагітних виявлена циркуляція в крові антитіл IgG, що підтверджує факт їхнього інфікування. При цьому високий рівень антитіл не був зареєстрований у вагітних досліджуваних груп.

Зважаючи на низьку діагностичну інформативність антитіл IgG для встановлення патологічного процесу, усім вагітним визначали рівень антитіл IgM. Під час дослідження у жодній вагітній не виявлено позитивного результату.

До групи TORCH-інфекцій також належить і краснуха. За результатами обстеження вагітних усіх досліджуваних груп тільки дві вагітні з II групи не мали імунітету. У зв'язку з цим ці вагітні були віднесені до групи ризику. Протягом всієї вагітності з інтервалом 6–8 тиж проводили контрольні дослідження для виключення гострої форми хвороби.

ВИСНОВКИ

Проведений аналіз засвідчив, що частота висівання патогенної мікрофлори у жінок I та II груп значно менше, ніж у групі контролю, що пов'язано з тим, що перед ЕКЗ методом ІКСІ вони проходили обстеження і лікування. Різниця в показниках при дослідженнях на TORCH-інфекцію у вагітних обстежуваних груп ми не знайшли.

Состояние микробиоценоза половых путей у обследованных беременных после экстракорпорального оплодотворения методом ИКСИ

Л.Е. Туманова, Е.А. Молчанова

В статье приведены результаты микробиологического исследования урогенитального тракта, исследования на урогенитальную и TORCH-инфекцию у женщин после экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) методом ИКСИ. Проведенный анализ показал, что частота высевания патогенной микрофлоры у женщин после ЭКО методом ИКСИ значительно меньше, чем в группе контроля, что связано с тем, что перед ЭКО методом ИКСИ они проходили обследование и лечение. Разницы в показателях при обследовании на TORCH-инфекцию у беременных исследуемых групп не найдено.

Ключевые слова: вспомогательные репродуктивные технологии, TORCH-инфекции, бесплодие, урогенитальная инфекция, антитела, условно-патогенная флора.

Microbiocenosis of genital tract of examined pregnant women after IVF with ICSI

L.E. Tumanova, E.A. Molchanova

In the article the results of the microbiological examination of the urogenital tract, the study on urogenital infections and TORCH-infections in women after IVF with ICSI method are presented. The analysis showed that the frequency of pathogenic microflora in women after IVF with ICSI method is much more less than that of the control group, because of the fact that before IVF with ICSI method they passed examinations and treatment. Differences in indexes during screening for TORCH-infection in pregnant women of examined groups are not found.

Key words: assisted reproductive technologies, TORCH-infections, infertility, urogenital infection, antibodies, conditionally pathogenic flora.

Сведения об авторах

Туманова Лариса Евгеньевна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии Национальной академии медицинских наук Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8

Молчанова Елена Александровна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии Национальной академии медицинских наук Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8. E-mail: solnce.o@voliacable.com

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Амирова А.А. Факторы, влияющие на исходы ЭКО (обзор литературы) [Текст] / А.А. Амирова, Т.А. Назаренко // Проблемы репродукции. – 2010. – № 1. – С. 68–73.
2. Буранова Ф.Б. Актуальные аспекты этнологии, патогенеза, диагностики и лечения плацентарной недостаточности у беременных после ЭКО [Текст] / Ф.Б. Буранова // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 6. – С. 9–16.
3. Воропаева Е.Е. Структурные особенности эндометрия у женщин с невынашиванием беременности ранних сроков, ассоциированным с хроническим эндометритом [Текст] / Е.Е. Воропаева // Вест. РУДН. – 2009. – № 6. – С. 332–338.
4. Радзинский В.Е., Кипяtkова Н.Г., Мухтарова А.В. Биогеоценозы влагалища при угрожающем невынашивании и преждевременных родах // Вестн. РУДН. – 2009. – № 2. – С. 364–373.
5. Тирская Ю.И. Неразвивающаяся беременность на фоне герпетической инфекции: вопросы патогенеза, диагностики, профилактики: Дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01. Омск., 2008. – 22 с.
6. Ходжаева З.С., Перминова С.Г., Сидельникова В.М. Тактика ведения беременности после экстракорпорального оплодотворения // Рос. мед. журн. – 2008. – № 1. – С. 8–12.
7. Краснопольский В.И. и др. Система оценки степени тяжести фетоплацентарной недостаточности у беременных и рожениц // Рос. вестн. акуш.-гин. – 2008. – № 5. – С. 87–95.
8. Радзинский В.Е., Оразмурадова А.А. Ранние сроки беременности. 2-е изд. – М.: Status Praesens, 2009.
9. Гаджиева Ф.Р. Морфофункциональные особенности слизистой оболочки матки у женщин с синдромом потери беременности ранних сроков инфекционно-воспалительного генеза [Текст] / Ф.Р. Гаджиева // Проблемы репродукции. – 2010. – № 5. – С. 18–23.
10. Амирова А.А. Факторы, влияющие на исходы ЭКО (обзор литературы) [Текст] / А.А. Амирова, Т.А. Назаренко // Проблемы репродукции. – 2010. – № 1. – С. 68–73.
11. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis / C.L. Haggertv et al. // Clin Infect Dis. 2004. 1, 39, N 7. – P. 990–995.

Статья поступила в редакцию 22.09.2014