

Особенности микробиоценоза и вирусной нагрузки половых путей у женщин с ранними репродуктивными потерями

О.В. Трохимович, М.В. Бражук

Государственное учреждение «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев

Обследовано 46 женщин с трубной беременностью, 68 женщин с несостоявшимся и самопроизвольным выкидышем и 30 женщин с одноплодной, нормально развивающейся беременностью в сроках 4–12 нед беременности.

У женщин с ранними репродуктивными потерями установлена активная контаминация половых путей ассоциативными формами патогенной и условно-патогенной микрофлоры в титрах, превышающих диагностические, на фоне повышенной вирусной нагрузки, инфекций, передающихся половым путем.

Выраженные дисбиотические нарушения микроэкологии влагалища у женщин с несостоявшимся и самопроизвольным выкидышем, трубной беременностью приводят к развитию инфекционно-воспалительных осложнений, что является одним из ключевых звеньев этиопатогенеза ранних потерь беременности.

Ключевые слова: микробиоценоз, несостоявшийся выкидыш, самопроизвольный выкидыш, трубная беременность.

В современных условиях среди актуальных проблем акушерско-гинекологической практики одно из важных мест отводится ранним репродуктивным потерям. Это обусловлено высокой частотой данной патологии, которая достигает 10–25% от общего числа наступивших беременностей и не имеет тенденции к снижению, что в условиях демографического кризиса приобретает особую значимость [1–3].

В этиологии ранних потерь беременности одно из ведущих мест отводится инфекционно-воспалительным заболеваниям. На сегодняшний день особенностью воспалительных процессов половых органов является малосимптомное или бессимптомное течение, что приводит к скрытой хронизации заболевания [4, 5]. Согласно литературным данным, бессимптомное носительство условно-патогенных и патогенных микроорганизмов в эндометрии у женщин с несостоявшимся и самопроизвольным выкидышем зарегистрировано соответственно в 26,7% и 67% случаев. Поэтому активное бактериологическое и вирусологическое обследование женщин с ранними репродуктивными потерями является вполне обоснованным [6, 7].

Цель исследования: изучить особенности микробиоценоза и вирусной нагрузки у женщин с ранними репродуктивными потерями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследован микробиоценоз половых путей 144 женщин с ранними репродуктивными потерями в возрасте от 21 до 35 лет: 68 женщин с несостоявшимся и самопроизвольным выкидышем в сроках 4–12 нед беременности (первая группа), 46 женщин с трубной беременностью (вторая группа). Контрольную группу составили 30 женщин с одноплодной, нормально развивающейся беременностью в сроках 4–12 нед беременности соответствующего возраста.

Проведение микробиологических анализов и учет результатов осуществляли согласно приказу № 234 МЗ Украины от 10.05.2007 года. Для посева слизи использовали следующие дифференциально-диагностические среды: кровяной агар, желточно-солевой агар (ЖСА), среды Эндо, Сабу-ро, среду MRS для лактобацилл. Посевы осуществляли методом секторного посева на плотные питательные среды, позволяющим определить степень микробного обсеменения и выявить максимально возможный спектр аэробной микрофлоры. Таксономическое положение микроорганизмов определяли согласно «Определителю бактерий Берджи». Идентификацию микроорганизмов проводили по их культуральным и морфологическим признакам.

Определение количества молочнокислых бактерий проводили через 24–48 ч инкубации при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$. В мазках, окрашенных по Грамму, лактобациллы имели вид грамположительных палочек.

Для определения стафилококков использовали ЖСА, на котором стафилококки вырастали в виде желтых или белых выпуклых колоний. Для идентификации учитывали пигментацию колоний и наличие лецитиназной активности. Колонии микроскопировали, пересевали на мясопептонный агар и идентифицировали по общепринятым тестам с использованием классических сред.

Для идентификации дрожжеподобных грибов применяли среду Сабу-ро. Чашки с просадки инкубировали в термостате при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение трех дней, затем характерные по морфологии колонии – плотные, непрозрачные, молочного цвета микроскопировали. В мазках дрожжеподобные грибы имеют вид больших овальных грамположительных клеток, расположенных единично, в скоплениях или цепочками.

Гарднереллез диагностировали методом бактериоскопии путем окрашивания мазков по Романовскому с последующим подсчетом «ключевых» клеток, постановкой аминного теста, определением pH.

Диагностику хламидиоза, уреаплазмоза и микоплазмоза осуществляли люминесцентным методом с помощью наборов «Хлам-Скан», «Уреа-Скан» и «Мико-Скан» (Москва).

Для определения степени экспрессии антигенов генитального герпеса (HSV-2) в эпителии влагалища и канала шейки матки применен иммунофлуоресцентный метод Кунса (Cons) в прямой модификации с использованием типоспецифического флуоресцентного иммуноглобулина к вирусу HSV-2, производства НИИ гриппа РАМН (Санкт-Петербург). Оценку результатов проводили в зависимости от степени выраженности люминесценции препарата: «++++», «+++», «++» – положительное значение, «+» и отсутствие свечения оценивали как отрицательный результат. Использованы люминесцентные микроскопы МЛ-2А и ЛЮМАМ-П.

Концентрации IgM и IgG к HSV-2 и цитомегаловирусу (CMV) в сыворотке крови определяли методом иммунофер-

ментного анализа с помощью тест-систем Nova Tec Immunodiagnosics (Германия) и иммуоферментного анализатора Stat fax 303 plus. Положительной считали пробу, которая по поглощению была равной или большей 11Nu (Nu – условная единица поглощения). Статистическую обработку полученных результатов выполняли вариационно-статистическим методом с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст женщин первой группы составил $27,4 \pm 2,6$ года, второй группы – $25,5 \pm 2,1$ года, контрольной группы – $24,3 \pm 2,2$ года. Перворекоменными в контрольной группе были 20 (66,7%) женщин, а остальные имели в анамнезе физиологические срочные роды. В первой и второй группе перворекменными были 39 (57,4%) и 29 (63,1%) пациенток соответственно.

Наличие хронических воспалительных заболеваний половых органов в анамнезе отмечали 38 (55,9%) пациенток первой группы и 24 (52,2%) пациенток второй группы.

Исследование микробиоценоза половых путей женщин с ранними репродуктивными потерями выявило ряд особенностей при сравнении с контрольной группой.

Основными представителями микробиоценоза влагалища женщин с несостоявшимся и самопроизвольным выкидышем (первая группа) были грамположительные кокки с гемолитическими свойствами в концентрациях, значительно превышающих диагностический уровень ($\lg 4,8 - \lg 6,2$ КОЕ/мл): эпидермальный стафилококк с гемолизом (35,3%), гемолитический стафилококк (30,1%), золотистый стафилококк (23,5%). Наряду с этим зарегистрировано активное обсеменение влагалища различными представителями энтеробактерий: кишечной палочкой (25,0%), кишечной палочкой с гемолитическими свойствами (17,4%), клебсиеллой (16,2%) в повышенных концентрациях ($\lg 4,6 - \lg 5,9$ КОЕ/мл).

Грибы рода Кандида диагностированы у 36,7% пациенток первой группы, при этом их средний количественный показатель составил $\lg 5,4 \pm 0,2$ КОЕ/мл (рисунок).

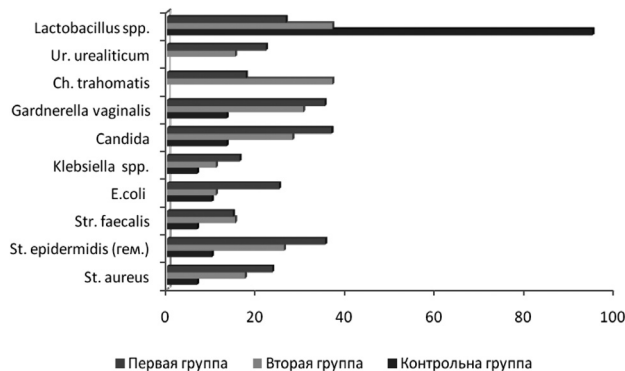
Следует отметить высокую частоту ассоциативных форм бактериального обсеменения половых путей женщин с несостоявшимся и самопроизвольным выкидышем, что имело место у 64,7% женщин первой группы. В состав двух и трех компонентных ассоциаций чаще входили энтеробактерии, грамположительные кокки и грибы рода Кандида в различных сочетаниях.

Важным механизмом, направленным против патогенных бактерий, является высокая конкурентоспособность нормальной микрофлоры за экологическую нишу. Как показали исследования, лактобациллы как представители нормоценоза влагалища выявляли у 26,5% женщин первой группы, при этом их концентрация была существенно снижена ($\lg 2,4$ КОЕ/мл).

Анализ инфицирования половых путей женщин второй группы инфекциями «нового поколения» выявил высокую частоту диагностики гарднереллеза (35,2%). Показатель диагностики хламидиоза составил 17,6%, уреоплазма – 22,1%, микоплазма – 16,2%.

Таким образом, изменения микробного состава половых путей женщин первой группы заключались в увеличении частоты и уровня количественных показателей контаминации различными видами энтеробактерий, стафилококков с патогенными свойствами, грибов рода Кандида и гарднерелл на фоне существенного дефицита лактобактерий.

Результаты микробиологического исследования влагалища женщин с трубной беременностью (вторая группа) также свидетельствовали о нарушении микробиоценоза. Отмечали повышение частоты высева равных видов условно-



Показатели микробиоценоза половых путей у обследованных женщин по группам

патогенной микрофлоры. Среди них чаще всего выявляли грамположительные кокки: стафилококк золотистый (17,4%), стафилококк гемолитический (26,1%), стафилококк эпидермальный с гемолитическими свойствами (30,4%), различные виды стрептококков (19,5%).

Установлена значительная контаминация влагалища женщин второй группы различными видами энтеробактерий: кишечной палочкой (19,5%), гемолитической кишечной палочкой (10,9%), энтеробактером (13,0%), клебсиеллой (10,9%). При этом количественный показатель контаминации энтеробактериями составил $\lg 4,4 - 5,1$ КОЕ/мл.

Грибы рода Кандида диагностированы почти у трети (28%) женщин с трубной беременностью, средний показатель концентрации составил $\lg 5,1 \pm 0,7$ КОЕ/мл, что превышало показатель нормы.

Кисломолочные бактерии выявляли только у 36,9% пациенток второй группы. На фоне дефицита или отсутствия лактобацилл у женщин данной группы отмечено повышение частоты ассоциативных форм бактериального обсеменения влагалища (47,8%).

С высокой частотой среди инфекций, передающихся половым путем, у женщин второй группы выявляли хламидиоз (36,9%). Известно, что хламидии могут вызывать воспалительный процесс в маточных трубах, что в дальнейшем приводит к сужению просвета, нарушения их моторной функции, что является одной из причин возникновения внематочной беременности.

Следует также отметить повышение частоты диагностики гарднерелл. В целом, методом бактериоскопии с учетом «ключевых клеток» и вспомогательных тестов гарднереллез диагностирован у 30,4% женщин второй группы. Частота регистрации микоплазмоза в данной группе составила 10,9%, а уреоплазмоза – 15,2%.

Представителей лактофлоры выделяли у 34,7% пациенток второй группы, при этом их количественный показатель концентрации также был значительно снижен ($\lg 2,8 \pm 0,2$ КОЕ/мл).

При обследовании беременных женщин контрольной группы установлено, что в целом частота и количество выделенных из влагалища условно-патогенных микроорганизмов не превышало норму.

Лактобактерии выявляли почти у всех женщин контрольной группы (95%), при этом показатель колонизации слизистой оболочки влагалища лактобациллами был достаточно высоким и составил $\lg 5,6 \pm 0,07$ КОЕ/мл. В бактериальный спектр влагалища женщин этой группы вошли и представители условно-патогенной и патогенной микрофлоры: стафилококк эпидермальный (16,7%), стафилококк золотистый (6,7%), различные виды стрептококков (6,7%), но следует отметить, что их концентрации ($\lg 2,2 - \lg 3,4$ КОЕ/мл) не превышали диагностический уровень.

Показатели инфицирования HSV-2 обследованных женщин по группам, абс. число (%)

Градация антител, антигена	Группа обследованных		
	Первая	Вторая	Контрольная
IgM, Nu:			
< 9	45 (66,2)	38 (82,6)	29 (96,7)
9-11	10 (14,7)	8 (17,4)	1 (3,3)
> 11	13 (19,1)	-	-
IgG, Nu:			
< 9	28 (63,6)	27 (58,7)	22 (73,4)
9-11	3 (4,4)	5 (10,9)	3 (10,0)
> 11	27 (39,7)	14 (30,4)	5 (16,7)
Антиген HSV-2			
"0"	25 (36,8)	32 (69,6)	28 (93,3)
"+"	18 (26,5)	3 (6,5)	2 (6,7)
"++"	7 (10,3)	5 (10,9)	-
"+++"	10 (14,7)	4 (8,7)	-
"++++"	8 (11,7)	2 (4,3)	-

В отличие от женщин первой и второй групп у женщин контрольной группы не отмечено активной обсемененности влагалища представителями энтеробактерий. Среди них регистрировали: кишечную палочку – 10%, клебсиеллу – 6,7%, энтеробактерии – 6,7%. Несколько чаще контаминировали влагалище грибы рода Кандида (13,3%), однако их количественный показатель ($Ig\ 3,3 \pm 0,03$ КОЕ/мл) был значительно ниже по сравнению с первой и второй группами.

Частота выявления ассоциативных форм обсеменения слизистой оболочки влагалища у женщин контрольной группы составила 20% случаев. При этом состав ассоциаций существенно отличался в сравнении с микробными ассоциациями женщин первой и второй групп и в большинстве случаев был представлен различными видами кокковой микрофлоры и грибами рода Кандида.

Наличие гарднерелл установлено только у 13,3% женщин контрольной группы. Наряду с этим не зарегистрированы случаи выявления хламидий, уреаплазм и микоплазм в данной группе женщин.

Анализ инфицирования женщин герпесвирусной инфекцией с ранними репродуктивными потерями установил высокую частоту генитального герпеса и цитомегаловирусной инфекции по сравнению с контрольной группой.

Как показали исследования, в большинстве случаев серологические признаки активного герпесвирусного процесса совпадали с детекцией антигенов в слизистой оболочке влагалища (таблица).

Изучение концентраций IgM и IgG к генитальному герпесу в сыворотке крови, а также экспрессии его антигена в эпителии влагалища женщин первой группы установило наличие инфекции у 25 (36,8%) пациенток. При этом положительный уровень IgM (11,0–27,0 Nu) отмечался у 13 (19,1%) женщин, а наличие выраженной экспрессии антигена HSV-2 в клетках эпителия «++++» и «+++» установлено у 18 (26,4%) женщин. Наличие положительных концентраций IgG к генитальному герпесу выявлено у 27 (39,7%) женщин первой группы, при этом у 13 (19,1%) женщин отмечали значительные повышенные концентрации IgG (30,0–47,0 Nu) в сочетании с положительным или сомнительным уровнем IgM, что свидетельствовало о наличии свежей либо активации хронической инфекции, что имеет безусловное значение в этиопатогенезе ранних репродуктивных потерь.

Наряду с этим, наличие IgM к вирусу цитомегалии в сыворотке крови в положительных концентрациях (10,0–20,0 Nu) установлено у 10 (14,7%) пациенток первой группы, а положительные IgG (23,0–45,0 Nu) диагностированы у 40 (58,8%) женщин этой группы.

Исследование сыворотки крови женщин с трубной беременностью на наличие IgM и IgG к генитальному герпесу установило, что положительных результатов IgM к HSV-2 у женщин данной группы не выявляли, а у 8 (17,4%) пациенток отмечали сомнительный уровень IgM к HSV-2, что требовало проведения повторного тестирования в динамике.

Следует отметить, что у 14 (30,4%) пациенток второй группы установлены повышенные концентрации IgG в пределах 23,0 Nu–37,0 Nu, наряду с этим при исследовании степени выраженности антигена HSV-2 отмечали его выраженную экспрессию в клетках эпителия влагалища – «++++» и «+++» – у 6 (13,0%) женщин.

По результатам обследования положительный уровень IgM к CMV в сыворотке крови зарегистрирован у 3 (6,5%) женщин второй группы, а сомнительный уровень IgM – у 5 (10,9%) пациенток. При определении IgG к CMV положительные концентрации (15,0–32,0 Nu) отмечали у 14 (30,4) пациенток.

При исследовании сыворотки крови женщин контрольной группы установлено наличие положительных концентраций IgG к HSV-2 и CMV в пределах 11–26 Nu соответственно у 5 (16,7%) и 7 (23,3%) пациенток; положительных концентраций IgM к HSV-2 и CMV не зарегистрировано.

Таким образом, у женщин с ранними репродуктивными потерями отмечено повышение контаминации половых путей микробными ассоциациями патогенной, условно-патогенной микрофлоры, инфекций, передающихся половым путем, на фоне герпесвирусного инфицирования и выраженного дефицита лактофлоры. Выявленные дисбиотические нарушения микроэкологии влагалища у женщин с несостоявшимся и самопроизвольным выкидышем, трубной беременностью могут приводить к развитию инфекционно-воспалительных осложнений, что является одним из ключевых звеньев этиопатогенеза ранних потерь беременности.

ВЫВОДЫ

1. У женщин с несостоявшимся и самопроизвольным выкидышем выявлен выраженный дисбиоз половых путей, который в 64,7% случаев характеризуется наличием многокомпонентных ассоциаций, состоящих из энтеробакте-

рий, грамположительных кокков, грибов рода Кандида, на фоне повышенной контаминации гарднереллами (35,2%), уреазплазмами (22,1%), активации герпесвирусной инфекции (26,4%).

2. У женщин с трубной беременностью характерным признаком нарушений микроэкологии половых путей является наличие ассоциативных форм микробного обсеменения патогенной и условно-патогенной микрофлорой в 47,8% случаев в сочетании с высокой частотой регистрации хламидиоза (36,9%) и гарднереллеза (30,4%) на фоне герпесвирусного инфицирования (30,4%) и дефицита лактофлоры.

3. Изменение качественных и повышение количествен-

ных показателей высева представителей патогенной и условно-патогенной микрофлоры, грибов рода Кандида, выявление инфекций, передающихся половым путем, на фоне значительного дефицита лактофлоры у женщин с ранними репродуктивными потерями свидетельствует о повышении риска развития воспалительного процесса, являющегося одним из ключевых звеньев этиопатогенеза ранних потерь беременности.

4. Несомненно целесообразность проведения бактериологического и вирусологического контроля за состоянием микроэкологии половых путей женщин на прегравидарном этапе с целью предупреждения ранних репродуктивных потерь.

Особливості мікробіоценозу та вірусного навантаження статевих шляхів у жінок з ранніми репродуктивними втратами
О.В. Трохимович, М.В. Бражук

Обстежено 46 жінок з трубною вагітністю, 68 жінок із викиднем, що не відбувся, і самовільним викиднем і 30 жінок з фізіологічним перебігом вагітності в термінах 4–12 тиж вагітності.

У жінок з ранніми репродуктивними втратами встановлена активна контамінація статевих шляхів асоціативними формами патогенної та умовно-патогенної мікрофлори в титрах, що перевищують діагностичні, на тлі підвищеного вірусного навантаження, інфекцій, що передаються статевим шляхом.

Виражені дисбіотичні порушення мікроекології піхви у жінок з викиднем, що не відбувся, і самовільним викиднем, трубною вагітністю призводять до розвитку інфекційно-запальних ускладнень, що є одним з ключових ланок етіопатогенезу ранніх втрат вагітності.

Ключові слова: мікробіоценоз, викидень, що не відбувся, мимовільний викидень, трубна вагітність.

The features of microbiocenosis, viral load of genital tract in women with early reproductive losses
O.V. Trohimovych, M.V. Brazhuk

The features of microbiocenosis, viral load of genital tract was examined of 46 women with tubal pregnancy, 68 women with missed abortion and miscarriage, 30 women with singleton, physiological pregnancy in terms of 4–12 weeks of pregnancy.

In women with early reproductive losses was found an active contamination of genital tract by associative forms of pathogenic and conditionally pathogenic microflora in the credits above diagnostic, on a background of increased viral load infections, sexually transmitted infections. Expressed disbiotic violations of microecology of the vagina in women with missed abortion, miscarriage, tubal pregnancy lead to the development of infectious and inflammatory complications, which is one of the key elements in the etiopathogenesis of early pregnancy loss.

The bacteriological and virological monitoring of the microecology of the genital tract of women in pregravidal stage is necessary to prevent the early reproductive losses.

Key words: microbiocenosis, missed abortion, spontaneous miscarriage, tubal pregnancy.

Сведения об авторах

Трохимович Ольга Витальевна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», отделение планирования семьи, 04050, г. Киев, ул. Майбороды, 8. E-mail: o.trohimovych@mail.ru

Бражук Марина Дмитриевна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», отделение реабилитации репродуктивной функции женщин, 04050, г. Киев, ул. Майбороды, 8. E-mail: marinabrazhuk@bigmir.net

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Давидян О.В. Репродуктивное здоровье женского населения как медико-социальная проблема // Молодой ученый. – 2011. – Т. 2, № 2. – С. 152–153.
2. Сидельникова В.М. Невынашивание беременности / В.М. Сидельникова, Г.Т. Сухих. – Москва, 2010. – 347 с.
3. Радзинский В.Е. Неразвивающаяся беременность / Радзинский В.Е., Димитрова В.И., Майскова И.Ю. – Москва: Гэотар-Медиа, 2009. – 200 с.
4. Половинка В.О. Факторы риска развития невыношивания вагітності // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2008. – № 6. – С. 80–82.
5. Подзолкова Н.М. Невынашивание беременности: учебно-методические рекомендации / Н.М. Подзолкова, М.Ю. Скворцова. – М., 2010. – 52 с.
6. Нагорна В.Ф. Мікробіоценоз піхви у вагітних із загрозою переривання вагітності / В.Ф. Нагорна, А. Хепатрауд // Одеський медичний журнал. – 2007. – № 3 (65). – С. 66–68.
7. Гродницкая Е.Э. Микробиоценоз влагалища и пути его коррекции у женщин с самопроизвольным прерыванием беременности в поздние сроки гестации в анамнезе / Е.Э. Гродницкая, М.Б. Шаманова, О.С. Палей [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2011. – № 1. – С. 22–25.

Статья поступила в редакцию 24.10.2014