

М.А. Власова¹, О.В. Островская¹, Н.М. Ивахнишина¹, Н.Ф. Иевлева², Н.Е. Пермина², Н.Г. Сидорчук¹

ДИАГНОСТИКА БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА У ЖЕНЩИН С ЦЕРВИЦИТАМИ МЕТОДОМ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

¹Хабаровский филиал ДНЦ ФПД – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, 680022, ул. Воронежская, 49, корп. 1, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru;

²НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Хабаровск-1 ОАО «РЖД» 680022, ул. Воронежская, 49, тел. 8-(4212)-40-93-93, e-mail: @dkb-dv.ru, г. Хабаровск

Резюме

Целью работы было определение частоты встречаемости вагиноза влагалища у женщин с хроническими рецидивирующими цервицитами. Данное исследование выполнено с применением ПЦР в реальном времени (тест «Фемофлор-16»). Проведено исследование соскобов клеток заднебокового свода влагалища у длительно болеющих женщин с цервицитами без эктопии шейки матки (1-я группа, n=100), пациенток с цервицитами и эктопией шейки матки (2-я группа, n=31), а также у условно здоровых женщин, планирующих беременность (3-я группа, n=35). Дисбиоз влагалища обнаружен соответственно в 37,0 %, в 32,2 %, в 11,1 % случаев. Структуру дисбиоза представляли преимущественно облигатные анаэробные возбудители. Аэробный и смешанный дисбиоз установлены только в группе женщин с цервицитами без эктопии. Рекомендуется применять ПЦР-РВ для оценки микроценоза влагалища у женщин с затяжными и рецидивирующими цервицитами и на предгравидарном этапе для своевременного и адекватного лечения.

Ключевые слова: дисбиоз влагалища, цервициты, эктопия шейки матки, ПЦР в реальном времени.

М.А. Vlasova¹, O.V. Ostrovskaya¹, N.M. Ivakhnishina¹, N.F. Ievleva², N.E. Permina², N.G. Sidorchuk¹

BACTERIAL VAGINOSIS DIAGNOSTICS IN WOMEN WITH CERVICITIS BY REAL-TIME PCR METHOD

¹Research Institute of Mother and Child Health Care – Khabarovsk Branch of the Far-Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology;

²Railway Hospital at Khabarovsk-1 Railway Station of Russian Railways, Khabarovsk

Summary

Assessment of vaginosis prevalence in women with long-term cervicitis. Scrapings of posterolateral vaginal fornix in women with long-term cervicitis in the absence of cervical ectropion (1st group, n=100), women with long-term cervicitis and cervical ectropion (2nd group, n=31), and relatively healthy women preparing for pregnancy (n=35) were examined using Femoflor-16 test (PCR-RT). Vaginal dysbiosis was found in 37,0 %, 32,2 %, and 11,1 % of cases, respectively. Dysbiosis structure was represented primarily by obligate anaerobes. Aerobic and mixed dysbiosis were only found in women with cervicitis in the absence of cervical ectropion. Real-time PCR method is recommended for assessment of microceno- sis in women with long-term and recurrent cervicitis and in women preparing for pregnancy in order to provide early adequate therapy.

Key words: vaginal dysbiosis, vaginitis, cervicitis, cervical ectropion, real-time PCR.

Бактериальный вагиноз – малосимптомный патологический процесс, развивающийся в результате воздействия различных эндо- и экзогенных факторов, сопровождающийся дисбалансом микроэкосистемы влагалища, резким снижением содержания или отсутствием молочнокислых бактерий и чрезмерно высокой концентрацией условно-патогенных микроорганизмов, что может приводить к повышению влагалищного pH, появлению выделений из влагалища, сопровождающихся запахом. Клиническое значение диагностики дисбиоза связано с тем, что часть дисбиотических процессов могут протекать бессимптомно или со слабо выраженной симптоматикой с переходом в хронически рецидивирующие формы и распространение на верхние отделы урогенитального тракта. Бактериальный вагиноз увеличивает восприимчивость к инфекциям, передающимся половым путем, повышает риск инфекционных осложнений после абортов и гинекологических операций, риск развития воспали-

тельных заболеваний органов малого таза, невынашивания беременности, преждевременных родов [2, 5, 9].

На сегодняшний день в достаточной степени изучена микробиология бактериального вагиноза, определен спектр ассоциированных с ним микроорганизмов. В первую очередь, это *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* а также бактерии родов *Prevotella*, *Mobiluncus*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Corynebacterium*, *Leptotrichia* и др. [1, 2, 3]. Из всех анаэробов только гарднереллу можно обнаружить микроскопически по наличию «ключевых клеток». Остальные облигатные анаэробы выявляются бактериологически, это длительно, дорого и трудоемко, требует применения анаэробной микробиологической техники.

Условно патогенные микроорганизмы могут присутствовать как при патологических состояниях (в значительных количествах), так и в норме (в ограниченном количестве). Разработка и применение в лабораторной диагностике метода ПЦР с детекцией

результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) позволило проводить многофакторный качественный и количественный анализ условно патогенной микрофлоры генитального тракта. Использование этого метода повышает информативность диагностики бактериального вагиноза, сокращает время, стоимость и трудоемкость исследования по сравнению с классиче-

скими методами, позволяет выявлять широкий спектр микроорганизмов, в том числе трудно культивируемых [8, 10].

Цель работы: определить частоту встречаемости бактериального вагиноза влагалища у женщин с длительными, плохо поддающимися лечению цервицитами, используя метод ПЦР-РВ, тест «Фемофлор-16».

Материалы и методы

Проведено исследование соскобов клеток заднебокового свода влагалища у женщин, страдающих длительными воспалительными процессами шейки матки. В 1-ю группу исследованных вошли женщины с цервицитами без эктопии (n=100), во 2-ю – пациентки с цервицитами и эктопией шейки матки (n=31), 3-ю группу составили условно здоровые женщины, готовящиеся к беременности и не предъявляющие жалоб (n=35). При предварительном обследовании во всех группах не было выявлено безусловных патогенов таких, как *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*

Состояние биоценоза влагалища определяли методом ПЦР-РВ с использованием реагентов «Фемофлор-16» в детектирующем амплификаторе ДТ-96 (НПО ДНК – Технология, Россия). Данный набор включает комплекс реагентов для выявления контроля взятия материала, количественного определения общей бактериальной массы (ОБМ), количественной оценки нормофлоры (*Lactobacillus spp.*) и 23 наиболее клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов с выяснением соотношений между ними и ОБМ.

Для получения адекватных результатов использовали только образцы с достаточным количеством клеток цервикального канала, попавших в пробирку с анализируемой пробой и достаточной ОБМ. Учитывали пробы, в которых количество ДНК клеток человека было больше 10^4 геном – эквивалентов (ГЭ) в образце, а величина ОБМ составляла от 10^6 до 10^9 ГЭ в образце. С помощью программного обеспечения устанавливалось количество ОБМ, лактобацилл и различных групп условно-патогенных микроорганизмов количественным методом и относительно ОБМ. Количественную оценку влагалищной микрофлоры проводили как

в абсолютных, так и в относительных показателях. Абсолютный показатель – количество ДНК искомого микроорганизма в образце, выраженное в ГЭ, представленное в виде десятичного логарифма – lg. Относительный количественный показатель микроорганизма рассчитывали как отношение количества искомого микроорганизма к количеству ОБМ. Количественный показатель был представлен в двух форматах: разница десятичных логарифмов количества соответствующей группы микроорганизмов и ОБМ и в процентах по отношению ОБМ.

Результаты рассматривали в соответствии с критериями, разработанными Г.Т. Сухих и соавтор. (2011) [8]. Классификация видов биоценоза включала:

1) нормоценоз абсолютный – вариант биоценоза, при котором доля нормофлоры составляет 80 до 100 % = относительно ОБМ, количество *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma spp.* – менее 10^4 гз/мл; а грибов рода *Candida* – менее 10^3 гз/мл;

2) нормоценоз условный – доля нормофлоры составляет 80-100 % относительно ОБМ, количество *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma spp.* – более 10^4 гз/мл, а *Candida spp.* – более 10^3 гз/мл;

3) дисбаланс умеренный (аэробный, анаэробный или смешанный) – доля лактобактерий снижена до 20-80 % относительно ОБМ за счет увеличения количества анаэробов и/или аэробов;

4) дисбаланс выраженный (аэробный, анаэробный или смешанный) – доля лактобактерий снижается до 20 % и менее, доля условно патогенных микроорганизмов достигает 80-100 % относительно ОБМ.

Полученные результаты обработаны с помощью программы Statistika for Windows 6,0 (Statsoft Inc., США). Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Анализ полученных данных показал, что нормоценоз, в частности абсолютный нормоценоз, в 1-й и 2-й группах определяли в 1,4-1,3 раза реже, чем в 3-й группе женщин ($p < 0,0020$, $p < 0,0181$, табл. 1).

Дисбиотическое состояние влагалища в 1-й и 2-й группах (37,0 % и 32,2 %) определили в 3,3 и 2,8 раза чаще, чем в 3-й группе (11,4 %, $p < 0,0020$, $p < 0,0181$). Не было выявлено статистических различий между частотой выявления нормоцитоза и дисбиоза влагалища в 1-й и 2-й группах. Этиология цервицитов ассоциируется с такими патогенами как стафилококки, стрептококки, кишечная палочка, возбудители хламидиоза, уреаплазмоза, гонококковой, трихомонадной, герпетической инфекции с соответствующей клинической картиной. Но наши данные показывают, что у каждой 3-й женщины с цервицитами определяется

дисбиоз влагалища. Нелеченный дисбиоз усугубляет течение воспалительных процессов, способствует длительному течению и рецидивам. У большинства обследованных женщин был определен анаэробный дисбиоз с наличием облигатно-анаэробных микроорганизмов: в 1-й группе – в 86,5 % случаев, во 2-й и 3-й группах – в 100 %. Выраженный дисбиоз в 7,2 и 5,5 раз чаще выявляли в 1-й и 2-й группах по сравнению с 3-й ($p < 0,0066$ и $p < 0,0335$). Умеренный смешанный дисбиоз (сочетание аэробных и анаэробных микроорганизмов) диагностировали только у 2 пациенток 1-й группы женщин (в одном случае – *Streptococcus spp.* и *Candida spp.*; в другом – *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphryomonas spp.* и *Enterobacteriaceae*). Выраженный аэробный дисбиоз, связанный со *Streptococcus spp.*, определен тоже только у женщин 1-й груп-

пы (всего 5 случаев). Обращает на себя внимание тот факт, что у женщин, готовящихся к беременности и не предъявляющих жалоб, дисбиоз установлен в 11,4 % случаев. Структуру его составили: *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*, *Eubacterium sp.* и *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*. Существуют данные, указывающие на причинно-следственные связи между развитием микробного дисбаланса в вагинальном биотопе и увеличением риска развития преждевременных родов [1, 2, 3].

Таблица 1

Распознавание дисбиоза влагалища у женщин с цервицитами шейки матки (абс./%)

Состояние биоценоза	Цервициты без эктопии шейки матки (n=100)	Цервициты с эктопией шейки матки (n=31)	Условно здоровые женщины, планирующие беременность (n=35)	Достоверность различий, p		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа	1 и 3	2 и 3	1 и 2
Нормоценоз	63/63,0	21/67,8	31/88,6	0,0020	0,0181	0,3060
- абсолютный	35/35,0	11/35,4	19/54,4	0,0241	0,0241	0,4534
- условный	28/28,0	10/32,3	12/34,2	0,2516	0,4316	0,3339
Дисбиоз	37/37,0	10/32,2	4/11,4	0,0020	0,0181	0,3060
умеренный	16/16,0	5/16,1	3/8,6	0,1535	0,1535	0,4475
- анаэробный	14/14,0	5/16,1	3/8,6	0,2223	0,1535	0,3911
- смешанный	2/2,0	0	0	0,1996	0,5000	0,2137
выраженный	21/21,0	5/16,1	1/2,9	0,0066	0,0335	0,2709
- анаэробный	16/16,0	5/16,1	1/2,9	0,0231	0,0335	0,4475
- аэробный	5/5,0	0	0	0,0888	0,5000	0,1021

Примечание. Значение $p < 0,05$ выделено жирным шрифтом.

Этиологическая структура дисбиоза показана в таблице 2. В 1-й группе наиболее часто определяли сочетание *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*, а также *Eubacterium spp* и *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*. Известно, что такой микроорганизм, как *G.vaginalis* передается половым путем, вызывает вагиноз влагалища, при этом меняется pH влагалища, уменьшается количество лактобактерий, появляются водянистые выделения и резкий рыбный запах. Далее в ассоциации с другими условно-патоген-

ными возбудителями *G. vaginalis* вызывает неспецифические вагиниты, цервициты.

Таблица 2

Частота выявления микроорганизмов в генитальном тракте женщин в сравниваемых группах (%)

Микроорганизмы		Группы обследуемых женщин		
		цервициты без эктопии шейки матки (n=100). Группа № 1	цервициты с эктопией шейки матки (n=31). Группа № 2	планирование беременности (n=35). Группа № 3
Факультативно-анаэробные	<i>Enterobacteriaceae</i>	1,0	0	0
	<i>Streptococcus spp.</i>	6,0	0	0
	<i>Staphylococcus spp.</i>	0	0	0
Облигатно-анаэробные	<i>Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.</i>	18,0	19,3	8,6
	<i>Eubacterium spp</i>	12,0	22,5	8,6
	<i>Sneathia spp./Leptotrichia spp./Fusobacterium spp.</i>	5,0	10,0	0
	<i>Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.</i>	2,0	3,2	0
	<i>Lachnobacterium spp./Clostridium spp.</i>	3,0	0	0
	<i>Atopobium vaginae</i>	6,0	22,5	0
Дрожжеподобные грибы	<i>Candida spp.</i>	5,0	3,2	0
Микоплазмы	<i>Mycoplasma hominis</i>	2,0	10,0	0
	<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	8,0	19,3	8,6

Состав микроценоза влагалища отличался у женщин 1-й и 2-й групп. У женщин с цервицитами и эктопией шейки матки в 3,8 раз чаще выявляли *Atopobium vaginae* ($p < 0,0029$), в 5 раз чаще *M. hominis* ($p < 0,0221$), в 2,4 раза чаще *Ureaplasma* ($p < 0,0411$). *Atopobium vaginae* – высокоспецифичный маркер бактериального вагиноза, устойчивый к лечению метронидазолом, ассоциированный с длительным рецидивирующим течением заболевания [6, 7].

Микоплазмы и дрожжевые грибы обнаруживали преимущественно в сочетании с облигатными анаэробными микроорганизмами.

Выводы

1. Дисбиоз влагалища установлен у женщин с хроническими рецидивирующими цервицитами с наличием или без эктопии шейки матки в 30,0-32,2 % случаев, в группе условно здоровых женщин, готовящихся к беременности – в 11,1 %. Структуру дисбиоза представляли преимущественно облигатные анаэробные возбудители: *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Eubacterium spp.* и другие. Дисбиотическое состояние влагалища способствует хронизации воспалительного процесса в шейке матки.

2. Структура дисбиоза у пациенток с цервицитом и наличием эктопии шейки матки отличалась от этого показателя у женщин с цервицитами и без эктопии, достоверно чаще у женщин с эктопией определяли *Atopobium vaginae*, *Ureaplasma*, *M. hominis*. Считается, что *A. vaginae* – маркер длительного рецидивирующего течения заболевания, устойчивости к лечению метронидазолом, маркер, который можно рассматривать как ко- фактор или как триггер заболевания.

3. Факт установления дисбиоза влагалища у 11,1 % женщин, готовящихся к беременности и не высказывающих жалоб, заслуживает особого внимания. Ранее доказанная связь дисбиотических процессов с репродуктивными патологиями [1, 2, 3] диктует целесообразность лабораторной диагностики дисбиоза влагалища женщинам и в период прегравидарной подготовки и на ранних сроках беременности методом ПЦР-РВ с селективной деконтаминацией и последующим восстановлением нормальной микрофлоры.

4. Оценка микробиоты влагалища при воспалительных процессах в шейке матки с помощью метода ПЦР-РВ улучшает качество диагностики, позволяет выработать индивидуальный подход при назначении лекарственной терапии, способствующей сохранению здоровья женщины. Успех терапии будет зависеть как от элиминации возбудителей, так и от восстановления нормоценоза.

Литература

1. Бондаренко К.Р., Озолина Л.А., Бондаренко В.М., Шпирко В.О. Особенности влагалищной микроэко-системы в период гестации (обзор литературы) // Вестник РГМУ. – 2014. – № 4. – С. 6-11.
2. Власова М.А., Островская О.В., Супрун С.В., Кондрашова Е.А., Ивахнишина Н.М., Наговицына Е.Б. Применение теста «Фемофлор-16» для оценки состояния биоценоза генитального тракта у женщин с преждевременными родами // Дальневосточный медицинский журнал. – 2016. – № 3. – С. 54-57.
3. Гродницкая Е.Э. Микробиоценоз влагалища и пути его коррекции у женщин с самопроизвольным прерыванием беременности в поздние сроки гестации в анамнезе // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2011. – № 1. – С. 22-25.
4. Калинкина О.Б. Эффективность восстановления биоценоза влагалища женщин с синдромом поликистозных яичников при лечении псевдоэрозии шейки матки // Профилактика рака шейки матки: взгляд в будущее. – Сборник трудов международной научно-практической конференции. – М., 2008. – С. 62-63.
5. Кудрявцева Л.В. Бактериальный вагиноз. Пособие для врачей. – М., 2003. – 55 с.
6. Плахова К.И. Роль *Atopobium vaginae* при рецидивировании бактериального вагиноза // Вестник дерматологии и венерологии. – 2007. – № 5. – С. 10-13.
7. Рахматулина М.Р., Плахова К.И. Бактериальный вагиноз, ассоциированный с *Atopobium vaginae*: современные принципы диагностики и терапии // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 3. – С. 88-92.
8. Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест Фемофлор) (медицинская технология) / Г.Т. Сухих [и др.]. – М., 2011. – 36 с.
9. Тихомиров А.Л. Бактериальный вагиноз. Всегда ли и только антибиотики? // Consilium medicum. – 2011. – № 13 (6). – С. 52-55.
10. Шипицына Е.В. Применение теста фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища // Журнал акушерства и женских болезней. – СПб., 2012. – LXI, № 2. – С. 57-64.

Literature

1. Bondarenko K.R., Ozoliny L.A., Bondarenko V.M., Shpirko V.O. Features of vaginal microecosystem in gestational period: Literature review // Bulletin of RSMU. – 2014. – № 4. – P. 6-11.
2. Vlasova M.A., Ostrovskaya O.V., Suprun S.V., Kondrashova E.A., Ivakhnishina N.M., Nagovitsyna E.B. Evaluation of genital tract microbiocenosis in pregnant women with preterm rupture of membranes using «Femoflor-16» test // Far Eastern Medical Journal. – 2016. – № 3. – P. 54-57.
3. Grodnitskaya E.E. Vaginal microbiocenosis and ways for its correction in women with a history of habitual abortion in the late gestation period // Russian bulletin of obstetrician and gynecologist. – 2011. – № 1. – P. 22-25.
4. Kalinkina O.B. The efficiency of the restoration of the vagina biocenosis in women with polycystic ovarian syndrome in the process of treatment of cervical pseudo-erosion // Prevention of cervical erosion: Projection into the future. – Collection of works of the International scientific and practical conference. – M., 2008. – P. 62-63.
5. Kudryavtseva L.V., et al. Bacterial vaginosis. A manual for doctors. – M., 2003. – 55 p.
6. Plakhova K.I. The role of *Atopobium vaginae* in the recurrence of bacterial vaginosis // Bulletin of dermatology and venereology. – 2007. – № 5. – P. 10-13.
7. Rakhmatulina M.R., Plakhova K.I. Bacterial vaginosis associated with *Atopobium vaginae*: current principles of diagnosis and therapy // Obstetrics and gynecology. – 2012. – № 3. – P. 88-92.
8. Sukhikh G.T., et al. The use of the method of polymerase chain reaction in real time for assessment of microbiocenosis of the urogenital tract in women (test Femoflor): medical technology. – M., 2011. – 36 p.
9. Tikhomirov A.L. Bacterial vaginosis. Are antibiotics the only and the permanent option? // Consilium Medicum. – 2011. – № 13 (6). – P. 52-55.
10. Shipitsyna E.V. The use of «Femoflor» test for the assessment of vaginal microbiocenosis // Journal of obstetrics and women's diseases. – SPb., 2012. – LXI, № 2. – P. 57-64.

Координаты для связи с авторами: Власова Марина Александровна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник группы молекулярно-генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел. +7-914-542-67-81; Островская Ольга Васильевна – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, руководитель группы молекулярно-генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, тел. +7-924-107-99-61, e-mail: olrom41@mail.ru; Ивахнишина Наталья Михайловна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник группы молекулярно-генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД; Сидорчук Наталья Геннадиевна – лаборант-исследователь Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД; Иевлева Надежда Федоровна – канд. мед. наук, врач акушер-гинеколог высшей категории НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Хабаровск-1 ОАО «РЖД»; Пермина Наталья Евгеньевна – врач акушер-гинеколог высшей категории НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Хабаровск-1 ОАО «РЖД».

