

Э.Л.Баркалова, И.Хамуди

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА И ПРИ КОЛОНИЗАЦИИ UREAPLASMA SPP**

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького, Украина

**Реферат.** Изучен микробиоценоз влагалища 33 женщин репродуктивного возраста с уреоплазменной инфекцией без клинических проявлений. На фоне низких ( $0,5-3,9$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл) титров *Ureaplasma spp.* достоверно снижены уровни лактобактерий и гликогена, увеличено количество лейкоцитов, эпителиальных клеток, повышено рН, уменьшено содержание молочной кислоты и лактатдегидрогеназы в сравнении со здоровыми.

**Ключевые слова:** микробиологические исследования, урологическая инфекция

В настоящее время медицинские проблемы, связанные с дисбалансом нормо- и условно-патогенной биоты, приобрели междисциплинарный характер, что определяет их актуальность и медико-социальное значение [1, 3-5, 7]. В большинстве случаев урогенитальные заболевания, в том числе и вызванные изменением качественного и количественного состава условно-патогенной флоры, могут протекать со стертой, маловыраженной клинической симптоматикой. К микроорганизмам которые могут вызывать данные изменения относят *Ureaplasma spp.* Мнение ученых о роли уреоплазм в возникновении воспалительных заболеваний урогенитального тракта не однозначно [3, 6].

Предполагают, что одним из ключевых механизмов развития урогенитального уреоплазмоза являются изменения гормонального статуса женского организма, влияющие на состояние микробиоценоза влагалища [1]. Анализ данных литературы показывает, что результаты исследований противоречивы и не дают возможности составить цельное представление о значимости тех или иных нарушений в микробиоте влагалища, что и послужило обоснованием для проведения данного исследования [3, 6, 7].

Цель исследования – изучить и провести сравнительную оценку показателей микробиоценоза влагалища здоровых женщин репродуктивного возраста и при колонизации *Ureaplasma spp.* в различные фазы менструального цикла.

**М а т е р и а л и м е т о д ы**

Под наблюдением находилось 33 женщины репродуктивного возраста, у которых отсутствовали клинические проявления воспалительных заболеваний урогенитального тракта, а при обследовании выявлены низкие ( $0,5-3,9$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл) титры *Ureaplasma spp.* в виде моноинфекции. Присутствие урогенитальных уреоплазм в таких титрах расценивается как носительство [3].

В контрольную группу составили 30 здоровых женщин репродуктивного возраста, у которых

при проведении исследования методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени, не выявлено нарушений в микробиоценозе влагалища и отсутствовали ДНК *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Candida spp.*, *Gardnarella vaginalis*.

Для оценки биоценоза влагалища методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени использовали набор реагентов Фемофлор-16 (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва). Результаты количественной оценки общей бактериальной массы (ОБМ) и *Lactobacillus spp.*, *Ureaplasma spp.* выражали в генном эквиваленте на 1 мл (ГЭ/мл), что пропорционально количеству микроорганизмов, а для удобства проведения статистического анализа переводили в десятичные логарифмы ( $Lg_{10}$  КОЕ/мл). Забор материала производили из заднебокового свода влагалища с помощью урогенитальных зондов.

Изучали следующие показатели микробиоценоза влагалища: клеточный состав, содержание гликогена, глюкозы, рН влагалищного содержимого, активность альфа-амилазы, лактатдегидрогеназы, уровень молочной кислоты.

Учет количества эпителиальных клеток и лейкоцитов определяли путем микроскопии вагинальных мазков, окрашенных по Граму.

Определение гликогена производили полуколичественным методом [2].

рН влагалищного секрета определяли с помощью стандартных бумажных индикаторных полосок.

Количественное определение лактата, активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), активности альфа - амилазы проводили с помощью наборов реактивов фирмы «Audit Diagnostics» (Ирландия) на автоматическом анализаторе «Rayto RT-200C plus» Rayto Life and Analytical Sciences Co.,Ltd., США, соответственно инструкциям к наборам реактивов.

Концентрацию глюкозы исследовали с помощью диагностических наборов для определения глюкозы в биологических жидкостях глюкозо-оксидантным методом (НПП «Филист диагностика», г.Днепропетровск).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью стандартного пакета прикладных программ Windows Professional XP. Вычисляли среднее значение выборки (M) и стандартную ошибку признака (m). Достоверность отличий средних значений в двух выборках оценивали при помощи критерия Стьюдента.

Отличия в сравниваемых группах считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

#### Результаты и обсуждения

При микроскопическом исследовании влагалищного секрета у женщин основной группы с *Ureaplasma spp.* количество лейкоцитов достоверно ( $p < 0,05$ ) выше чем в контрольной группе во все фазы менструального цикла, а количество эпителиальных клеток достоверно не отличалось от показателей здоровых. Однако отмечено повышение среднего количества эпителиальных клеток в основной группе  $10,78 \pm 0,08$  ед/ в поле зрения.

Увеличение количества лейкоцитов и эпителиальных клеток в секрете влагалища указывает на то, что развитие уреаплазменной инфекции сопровождается воспалительной реакцией с последующей выраженной десквамацией эпителиоцитов слизистой оболочки влагалища (ЭСОВ).

У здоровых женщин количество эпителиальных клеток, как и кислотность влагалищного секрета, находясь в прямой зависимости от циклических процессов в яичниках, меняются в различные фазы менструального цикла. Ко времени овуляции рН наименьшая ( $3,67 \pm 0,21$ ), ко времени же менструации наибольшая ( $4,29 \pm 0,05$ ).

У пациенток основной группы среднее значение рН достоверно ( $p < 0,05$ ) отличалось от контрольных, при отсутствии колебаний по фазам цикла, что вероятно свидетельствует о нарушении функции яичников, влияющих не только на состояние гормонального статуса женщин, но и на микробиоценоз влагалища. Снижение нормальной кислотности влагалищного содержимого создает благоприятные условия для активного прикрепления *Ureaplasma spp.* к ЭСОВ, для жизнедеятельности и для их размножения.

При рассмотрении динамики ОБМ у здоровых женщин очевидно, что изменения состава микрофлоры влагалища параллельны изменениям рН. Так при снижении кислотности секрета влагалища в овуляторной фазе, отмечено увеличение ОБМ, а в фазу секреции, когда кислотность влагалища была наибольшая, количество микроорганизмов повышалось. Также отмечается динамическое снижение титра ОБМ от фазы овуляции к фазе пролиферации, при среднем значении за цикл —  $8,06 \pm 0,02$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл.

У женщин с *Ureaplasma spp.* выявлено уменьшение ОБМ во все фазы цикла. Средний показатель за цикл достоверно снижен при сравнении со здоровыми (соответственно  $6,39 \pm 0,08$  и  $8,06 \pm 0,02$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл, при  $p < 0,05$ ). Это объясняется снижением количества лактобактерий (ЛБ) и вытеснением микроорганизмов биотопа влагалища *Ureaplasma spp.*

ЛБ — основной представитель микрофлоры влагалища, которые играют существенную роль в поддержании его нормоценоза. Изучение количества ЛБ в различные фазы менструального цикла позволило выявить ряд достоверных отличий между группой женщин с *Ureaplasma spp.* и здоровыми, а их динамика — установить клиническую значимость этих отличий. Если у здоровых женщин количество ЛБ повышалось в ову-

ляторную фазу и снижалось в секреторную, то у больных с *Ureaplasma spp.* оно монотонно было снижено и незначительно менялось по фазам цикла, при этом максимальный титр отмечен в овуляторную фазу ( $5,62 \pm 0,06$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл), а средний показатель за цикл составил —  $5,37 \pm 0,07$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл, при достоверном ( $p < 0,05$ ) отличии от контроля ( $7,82 \pm 0,08$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл).

Важным показателем микробиоценоза влагалища есть относительное содержание ЛБ, которое вычисляется путем расчета разницы десятичных логарифмов между абсолютными значениями ЛБ и ОБМ.

У пациенток основной группы имеется снижение относительного показателя ЛБ ( $-0,56$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл); при нормальных значениях от 0 до  $-0,3$ .

Таким образом, особенностью микрофлоры влагалища женщин репродуктивного возраста с *Ureaplasma spp.* есть сочетание низких ( $0,5-3,8$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл) титров *Ureaplasma spp.* с низким содержанием ЛБ  $5,37 \pm 0,07$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл. Показатель ОБМ у них в среднем за цикл составил —  $6,39 \pm 0,08$   $Lg_{10}$  КОЕ/мл.

Количество гликогена в пролиферативную фазу цикла в основной группе ( $1,65 \pm 0,21$  усл.ед.) снижено без статистически значимой разницы. Аналогичная динамика отмечена и в другие фазы цикла.

У здоровых женщин репродуктивного возраста в течение менструального цикла наблюдается динамическое повышение уровня гликогена от фазы пролиферации с максимальным показателем в фазу секреции —  $3,37 \pm 0,06$  усл.ед.

Средний показатель содержания гликогена за цикл у женщин основной группы ( $2,42 \pm 0,52$  усл.ед.) без достоверности ниже по отношению к контролю  $2,85 \pm 0,02$  усл.ед.

При изучении содержания глюкозы отмечено, что у здоровых женщин уровень ее минимальный в пролиферативную фазу, далее имеет тенденцию к нарастанию, с максимальными показателями в секреторной фазе цикла. Средние уровни глюкозы в основной группе ( $1,71 \pm 0,01$  ммоль/л) достоверно не отличались от показателя здоровых женщин ( $1,91 \pm 0,05$  ммоль/л).

При изучении фермента гидролизующего гликоген — бета-амилазы отмечено, что у здоровых женщин репродуктивного возраста ферментативная сила содержимого влагалища изменяется в зависимости от фаз менструального цикла, с максимальным количеством в фазу овуляции ( $38,45 \pm 0,33$  мккат/г белка), что соответствует максимальному содержанию в крови эстрадиола и максимальному количеству ЭСОВ. Средние уровни бета-амилазы у в основной группе достоверно не отличались от показателя здоровых женщин.

Выявлено динамическое увеличение уровня молочной кислоты у здоровых женщин репродуктивного возраста от фазы пролиферации ( $4,31 \pm 0,03$  ммоль/г белка) к фазе овуляции ( $5,88 \pm 0,06$  ммоль/г белка) и снижение в фазу секреции ( $5,07 \pm 0,0506$  ммоль/г белка). Данная динамика соответствует динамике уровня эстрадиола.

У женщин с *Ureaplasma spp.* такой динамики нет, при этом, в фазу пролиферации этот показатель составил  $3,01 \pm 0,04$ ; в фазу овуляции  $3,52 \pm 0,03$ ; в фазу секреции  $3,72 \pm 0,04$ . Средние значения за цикл ( $3,42 \pm 0,02$  ммоль/г белка) достоверно ( $p < 0,05$ ) отличаются от показателей здоровых ( $5,09 \pm 0,01$  ммоль/г белка).

Вагинальный эпителий гормонозависим, то есть процесс его созревания регулируется с участием половых гормонов, в основном эстрогенов, прогестерона и гонадотропных гормонов гипофиза. Гормоны влияют опосредованно через фермент лактатдегидрогеназу (ЛДГ) [1]. В нашем исследовании у здоровых женщин динамика ЛДГ соответствует динамике молочной кислоты и уровню эстрадиола. Наименьшая концентрация имеется в фазу пролиферации ( $114,12 \pm 2,18$  мккат/г белка) с резким нарастанием в фазу овуляции ( $153,47 \pm 1,95$  мккат/г белка) и снижением в фазу секреции ( $144,33 \pm 1,69$  мккат/г белка), при среднем значении ( $137,31 \pm 1,15$  мккат/г белка).

У больных основной группы такая динамика прослеживается также, но при отсутствии пика в овуляцию и достоверном ( $p < 0,05$ ) снижении средних значений за цикл при сравнении со здоровыми (соответственно  $115,8 \pm 1,02$  и  $137,31 \pm 1,15$  мккат/г белка).

Таким образом, можно констатировать, что у женщин репродуктивного возраста, без клинических проявлений воспалительных заболеваний урогенитального тракта, выявлены существенные нарушения микробиоценоза влагалища во все фазы менструального цикла: на фоне низких ( $0,5-3,9$  Lg<sub>10</sub> КОЕ/мл) титров *Ureaplasma spp.* достоверно снижены уровни ЛБ и гликогена, увеличено количество лейкоцитов, эпителиальных клеток, повышено рН в щелочную сторону, уменьшено содержание молочной кислоты и ЛДГ в сравнении со здоровыми.

Таким образом, при колонизации влагалища *Ureaplasma spp.* снижается титр ЛБ, а следовательно, и количество молочной кислоты необходимой для поддержания кислой среды влагалища, при этом уменьшается адгезивная способность ЛБ, что приводит к изменениям в микробиоте влагалища, благоприятно влияющим на размножение условно-патогенных микроорганизмов.

E.L. Barkalova, I. Hamudi

### **Comparative characteristic of vagina microbiocenosis in healthy women of reproductive age and at *Ureaplasma spp.* colonization**

Vagina microbiocenosis has been studied in 33 women of reproductive age with ureaplasma infection without clinical manifestations. Against the

background of low ( $0.5-3.9$  Lg<sub>10</sub> COE/ml) *Ureaplasma spp.* titres there has been detected valid decrease in lactobacteria titres and glycogen level, rise in the number of leucocytes and epithelial cells in comparison with healthy ones, pH change into alkaline side, decrease in lactic acid content, lactate dehydrogenase in comparison with healthy ones (University clinic. — 2014. — Vol.10, №1. — P. 42-44).

**Keywords:** microbiological investigations, urinary tract infection.

Е.Л. Баркалова, І. Хамуді

### **Порівняльна характеристика микробиоценозу піхви здорових жінок репродуктивного віку і при колонізації *Ureaplasma spp.***

Вивчено микробиоценоз піхви 33 жінок репродуктивного віку з уреаплазменною інфекцією без клінічних проявів. На тлі низьких ( $0,5-3,9$  Lg<sub>10</sub> КУО/мл) титрів *Ureaplasma spp.* виявлено вірогідне зниження кількості лактобактерій, рівня глікогену, збільшення кількості лейкоцитів, епітеліальних клітин, підвищення рН, зменшення вмісту молочної кислоти, лактатдегідрогенази при порівнянні із здоровими (Університетська клініка. — 2014. — Т.10, №1. — С. 42-44).

**Ключові слова:** мікробіологічні дослідження, урологічна інфекція.

#### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Бебнева Т. Н. Лактобактерии и эстрадиол в коррекции биоценоза влагалища / Т.Н. Бебнева, В.Н. Прилепская, А.Б. Летуновская // Фарматека. — 2010. — № 9. — С. 24-28.
2. Гуйбадуллина Ф.Н. Влияние бальнеолечения на гликоген влагалищного содержимого у больных с хроническими воспалительными процессами гениталий / Ф.Н. Гуйбадуллина // Актуальные вопросы акушерства и гинекологии: Сб. научн. трудов. — Ташкент: Медицина, 1969. — С. 153. — 154.
3. Кисина В.И. Алгоритм диагностики и лечения урогенитальных заболеваний, ассоциированных с *Ureaplasma spp.* / В.И. Кисина // Клиническая дерматол. и венерол. — 2012. — №5. — С.89-94.
4. Мусаева З.М. Микробиоценоз влагалища и его коррекция / З.М. Мусаева // Проблемы женского здоровья. — 2008. — Т. 3, №3. — С.43-53.
5. Рахматулина М.Р. Современные представления о микробиоценозе вагинального биотопа и его нарушениях у женщин репродуктивного возраста / М.Р. Рахматулина, А.Ю. Шаталова // Вестн. дерматологии и венерологии. — 2009. — №3. — С.38-42.
6. Савичева А. Генитальные микоплазмы / А. Савичева, Е. Шипицына // Врач. — 2009. — №1. — С.9-12.
7. Linhares I.M. New findings about vaginal bacterial flora / I.M. Linhares, P.C. Giraldo, E.C. Baracat // Revista da Associação Medica Brasileira. — 2010. — Vol.56, №3. — P. 370-374.

Надійшла до редакції: 15.03.2014