

Исследование биоценозов урогенитального тракта у женщин с патологией шейки матки

Андосова Л.Д., к. м. н., кафедра клинической лабораторной диагностики,
Нижегородская государственная медицинская академия, г. Нижний Новгород

The research of biocoenoses of urogenital tract among women with cervix uteri pathology

Andosova L.D.

Резюме

Цель статьи: изучить характеристики биоценозов урогенитального тракта у женщин с фоновыми, воспалительными и предраковыми процессами на шейке матки с применением теста «Фемофлор». Материалы и методы. Всего в работе было обследовано 200 женщин в возрасте от 18 до 50 лет, обратившихся в клиники Нижнего Новгорода по поводу заболеваний шейки матки воспалительного и пролиферативного генеза. Комплексная оценка урогенитальной биоты в представленных группах позволила выделить три основных типа биоценоза влагалища: 1 тип – нормоценоз – 72 женщины (36%); 2 тип – умеренный дисбиоз – 34 женщины (17%); 3 тип – выраженный дисбиоз – 94 пациентки, что составляет 47%. Наиболее многочисленная группа – женщины с выраженным дисбиозом влагалища. В группах женщин с заболеваниями шейки матки воспалительного и пролиферативного генеза происходит значительное вытеснение лактобактерий с заменой их преимущественно анаэробными микроорганизмами. Дисбаланс соответствующего эпитопа, шейка матки может реально влиять на развитие и прогрессию цервикальных поражений.

Ключевые слова: биоценоз, патология шейки матки

Summary

The object of the research is to examine characteristics of the urogenital tract biocoenosis among women who have background, inflammatory and precancerous processes at cervix uteri by applying the test "Femoflor". Materials and methods. Two hundreds women were examined at the age of eighteen to fifty, who turned to clinics of Nizhny Novgorod in order to examine cervix uteri diseases of the inflammatory and proliferative genesis. The integrated assessment of the urogenital biota allowed to separate three basic types of vagina biocoenosis: 1 – normoenosis – 72 women (36%); 2 – temperate disbiose – 34 women (17%); 3 – frank disbiose – 94 patients (47%). Women who had the frank disbiose were the most extensive group. We could observe that lactobacterium were replaced by mainly anaerobic microorganisms in groups of women who suffered from diseases of the inflammatory and proliferative genesis. The epitope imbalance, the cervix uteri, can really influence on the development and progression of the cervical affection.

Key words: biocoenosis, cervix uteri pathology

Введение

Патология шейки матки является одним из наиболее часто встречающихся гинекологических заболеваний [1, 2]. Ключевой концепцией этиопатогенеза предраковых состояний и рака шейки матки признана вирусная гипотеза, центральное место в которой занимает вирус папилломы человека (ВПЧ), являющийся основным экзогенным фактором цервикального канцерогенеза [3, 4]. К одному из перспективных направлений дальнейшего изучения роли ВПЧ в этиологии и патогенезе заболе-

ваний шейки матки относят поиск инициирующих кофакторов, которыми могут быть другие инфекционные агенты, неспецифическая бактериальная флора, колонизирующая половые пути [5, 6]. Большой интерес представляет взаимосвязь микробиоценоза урогенитального тракта и состояния слизистой оболочки шейки матки [7]. О наличии нарушений в микробиоценозе влагалища, дефиците содержания доминирующих представителей нормоценоза у больных с различной патологией шейки матки, в том числе с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями (ЦИН), свидетельствует ряд отечественных работ [8, 9]. Наряду с этим имеются предположения, что цервикальные неоплазии ассоциированы с цервикальным воспалением, которое и может быть кофактором в развитии этих поражений у женщин, инфицированных онкогенными типами ВПЧ. Состояние микрофлоры влагалища нуждается в дальнейшем изучении, т.к. нормализа-

Ответственный за ведение переписки -

Андосова Лариса Дмитриевна,

Тел.: 831-438-33-94,

Моб.: 8-951-916-85-31,

e-mail: larisa-andosova@yandex.ru

ция вагинального микробиоценоза является важным этапом лечения любой патологии нижнего отдела генитального тракта. Широкое использование в комплексном лечении заболеваний шейки матки химиотерапевтических и антибактериальных средств может оказывать отрицательное воздействие на нормальную флору генитального тракта, вызывать или усиливать дисбиотические нарушения и снижать эффективность лечения. Это важно учитывать при выборе средств санации перед деструкцией и эксцизией атипичного эпителия, а также при подборе препаратов для профилактики осложнений после инвазивных вмешательств [8, 9]. Достижения молекулярной биологии, связанные с разработкой метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, представили новые возможности в изучении микробного состава различных биотопов человека [10, 11]. В настоящее время лабораторная диагностика предлагает эффективный способ оценки биоценоза урогенитального тракта у женщин – метод полимеразной цепной реакции формат реального времени (ПЦР-РВ) с учетом биоты изучаемого эпителиома в целом. ПЦР-РВ позволяет представить микрофлору половых путей в виде единой экологической системы. Этот тест получил название «Фемофлор» [12].

Цель статьи: изучить характеристики биоценозов урогенитального тракта у женщин с фоновыми, воспалительными и предракowymi процессами на шейке матки с применением теста «Фемофлор».

Материалы и методы

Всего в работе было обследовано 200 женщин в возрасте от 18 до 50 лет, обратившихся в клиники Нижнего Новгорода по поводу заболеваний шейки матки воспалительного и пролиферативного генеза. В результате прицельной биопсии у 26 из них был установлен диагноз цервикального интраэпителиального поражения низкой и высокой степени тяжести. Всем пациенткам изучаемых групп было проведено лабораторное обследование с помощью методов жидкостной цитологии, Пап-теста (окраска мазков по методу Папаниколау) и с помощью метода ПЦР-РВ. Последний метод включал в себя ВПЧ-скрининг на вирусы высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР), генотипирование ВПЧ ВКР и определение вирусной нагрузки. При анализе сопутствующей экстрагенитальной патологии у наблюдаемых пациенток констатирован высокий инфекционный индекс. Наиболее часто встречались хронические воспалительные заболевания органов дыхания и мочевыводящих путей, а также вирусные респираторные инфекции – 68%. Заболевания желудочно-кишечного тракта в 30% случаев были представлены дисбактериозом кишечника. Критерии включения в группу исследования были следующие: отсутствие заболеваний, вызванных облигатными патогенами (сифилис, гонорея, ВИЧ), критерии исключения: беременность или лактация, системное применение гормональных контрацептивных средств, а также антибактериальных препаратов в последние 2 месяца, использование местных лекарственных препаратов в течение трех недель, предшествующих обследованию. Материал для исследова-

ния собирали с заднебоковой стенки влагалища в пробирку эппендорф, содержащую 1 мл физиологического раствора, хранение и транспортировку материала проводили согласно действующим нормативным документам. ДНК выделяли с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС (ООО «НПО ДНК-Технология»). Исследование биоценоза влагалища проводили методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием реагентов Фемофлор (ООО «НПО ДНК-Технология») в детектирующем амплификаторе ДТ-96 согласно инструкции производителя (ООО «НПО ДНК-Технология»). Количество эпителиальных клеток во взятом материале оценивали по результатам анализа геномной ДНК человека в каждом образце. При помощи специализированного программного обеспечения рассчитывали количество (в геном-эквивалентах/мл (гг/мл)) общей бактериальной массы (ОБМ), лактобацилл и различных групп условно-патогенных микроорганизмов (факультативно- и облигатно-анаэробных микроорганизмов, микоплазм и дрожжеподобных грибов). Также оценивали долю нормофлоры, факультативно-анаэробных микроорганизмов и анаэробных микроорганизмов в процентах среди всех выявленных бактерий. В соответствии с данными клинической апробации теста Фемофлор была предложена следующая классификация видов биоценоза: оценка нормобиоты, основной представитель – лактобактерии, проводится как в абсолютных показателях (гг/мл), так и в относительных, т.е. в сравнении с общей бактериальной массой. Оценка показателя: нормоценоз, умеренно сниженный уровень, значительно сниженный уровень. Дисбаланс I – умеренный – вариант биоценоза, при котором доля лактобактерий 10-90% относительно ОБМ и увеличена доля аэробов или анаэробов. Дисбаланс II – выраженный – вариант биоценоза, при котором доля аэробов и анаэробов достигает 90% относительно ОБМ, а доля лактобактерий снижается менее 10% относительно ОБМ [13].

Все женщины, включенные в исследование, были разделены на 4 группы: 1-ая группа – 82 женщины с фоновыми, гиперпластическими процессами без воспалительного компонента – псевдоэрозия (эктопия) (клиническая классификация И.Я. Яковлевой с соавт.); 2-ая группа – та же, но с воспалительным компонентом – 58 женщин; 3-я группа – 34 пациентки с воспалительным характером изменений – цервициты (острый, хронический); 4-ая группа – 26 женщин с предракowymi состояниями (дисплазии – слабая, умеренная, тяжелая).

Результаты и обсуждение

Проведенное клиническое исследование показало, что большинство женщин – 192 человека (96%), обратились с жалобами на выделения из половых путей или чувство жжения и дискомфорта в области наружных половых органов; 80% женщин предъявляли жалобы на «незначительные» или «умеренные» выделения, что расценивалось ими как вариант физиологической нормы. «Выраженные» выделения из влагалища, мотивировавшие обращение пациенток в лечебное учреждение, на-

блюдались у 20% женщин. С целью профилактического осмотра было отмечено 8 человек. В 1-ой и 4-ой группах – эктопии без воспаления и диспластические изменения шейки матки – количество женщин, предъявлявших жалобы со стороны мочеполовой системы значительно меньше, чем в группах с воспалительным компонентом.

Комплексная оценка урогенитальной биоты в представленных группах позволила выделить три основных типа биоценоза влагалища: 1 тип – нормоценоз – 72 женщины (36%); 2 тип – умеренный дисбиоз – 34 женщины (17%); 3 тип – выраженный дисбиоз – 94 пациентки, что составляет 47%. Наиболее многочисленная группа – женщины с выраженным дисбиозом влагалища. Выраженный дисбаланс был выявлен у пациенток с заболеваниями шейки матки воспалительного характера – 52 человека (89,6%) в группе и у женщин с патологией в виде цервикальных неоплазий – 22 (84,6%) в группе, всего 74 пациентки (37%) испытуемых. Нормоценоз и отсутствие дисбаланса достоверно чаще определялись в группе женщин с эктопиями шейки матки без элементов воспаления – 40 человек (48,8%) в группе.

Исследование общей бактериальной массы показало отсутствие различий между всеми обследованными клиническими группами. Все группы испытуемых показали значение 10^6 - 10^8 гз/мл, что является нормальными значениями ОБМ – 140 женщин, что составило 70% изучаемых. Избыточное количество микроорганизмов в исследуемом биотопе выявили у 60 человек – 30%. Самые высокие значения показали пациентки 2-ой клинической группы – эктопии шейки матки с «воспалением» – 29 человек, что составляет 50% в группе. Уменьшение ОБМ в образцах не было отмечено.

Оценка нормобиоты урогенитального тракта женщин вышеуказанных групп, с помощью теста «Фемофлор», где основным представителем являются лактобактерии, выявила следующие состояния: умеренно сниженный уровень лактобацилл (относительный показатель (разница логарифмов/порядков между общей бактериальной массой и лактобациллами) – от 0,5 до 1) – 18 женщин (9%); значительно сниженный уровень лактобацилл (относительный показатель (разница логарифмов/порядков между общей бактериальной массой и лактобациллами) – больше чем 1) – 121 человек, что составило 60,5% испытуемых; третья группа представлена женщинами, у которых абсолютный показатель уровня лактобацилл практически не отличается от абсолютного показателя общей бактериальной массы, т.е. составляет 10^6 - 10^8 lg – 61 пациентка (30,5%). Проведенные исследования показали, что у 139 женщин, т.е. больше половины обследуемых (69,5%), выявили угнетение нормальной биоты, что делает возможным заселение влагалища патогенными микроорганизмами или чрезмерное размножение условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). В первой группе (эктопии без «воспаления») нормоценоз выявили 50 женщин (61%) в группе. Сниженный уровень лактобацилл показали 19 человек (23,2%). Мы не нашли статистически достоверных различий в состоянии биоценоза влагалища между женщинами с заболеваниями шейки

матки воспалительного и пролиферативного генеза 2-ая, 3-я и 4-ая группы. Это позволяет предположить, что нормобиота урогенитального тракта в этих группах отмечает снижение численности лактобактерий.

С помощью теста «Фемофлор» была проведена оценка аэробной и анаэробной условно-патогенной микробиоты. Во всех клинических группах анаэробный дисбиоз представлен самыми большими цифрами – 92 женщины (46%), смешанный – аэробно-анаэробный дисбиоз, занимает второе место – 75 человек, что составило 37,5%, аэробный дисбиоз – самая малочисленная группа – 8 человек (4%) испытуемых. Этиологическую структуру последнего дисбиоза составляют энтеробактерии, стрептококки и стафилококки, которые реже всего выявляются в отделяемом влагалища. Чаще всего причиной дисбиоза, по нашим данным, являются анаэробы. В первой группе (патология шейки матки без «воспаления»), большая часть пациенток не выявляла дисбаланса биоты, в остальной части исследований выявленная тенденция с преобладанием анаэробов сохранялась. Полученные данные свидетельствуют о том, что в группах женщин с заболеваниями шейки матки воспалительного и пролиферативного генеза происходит значительное вытеснение лактобактерий с заменой их преимущественно анаэробными микроорганизмами. С помощью нового лабораторного теста «Фемофлор» труднокультивируемые облигатно-анаэробные бактерии легко определяются, а также выявляется группа микроорганизмов, диагностика которых до сих пор не была представлена, например, специфический маркер рецидивирующего течения баквагиноза *Atopobium vaginae* – 64 человека (32%) испытуемых выявляют этот микроорганизм, специфический маркер рецидивирующего течения баквагиноза.

Анализ этиологической структуры выявленного дисбаланса продемонстрировал превалирование бактериально-грибковых форм: уреоплазмоз + кандидоз, микоплазмоз + кандидоз – представили 45 женщин (22,5%) и грибов рода *Candida* – 46 человек – 23%. Значительно реже регистрируются бактериальные формы: уреоплазмоз – 48 пациенток (24%), микоплазмоз + уреоплазмоз – 10 человек (5%) регистрируются значительно реже. В структуре нарушений биоценозов урогенитального тракта основную роль играют анаэробные микроорганизмы, в том числе с участием кандид и уреоплазм. Микоплазмы оказались редкой находкой у женщин с патологией шейки матки. Уреоплазмы обнаруживали во всех группах испытуемых. Доля женщин, у которых количество уреоплазм было более 10^4 , была значительной – 37%. Частота контаминации влагалища дрожжеподобными грибами кандиды у больных цервикальными неоплазиями превышала соответствующие показатели в других группах, что, вероятно, является отражением местного иммунодефицита, сопровождающего папилломавирусную инфекцию шейки матки. Грибы рода *Candida* присутствовали у большинства обследованных женщин всех групп в количестве более 10^3 , у 16 % женщин 2-ой, 3-ей и 4-ой групп грибы выявляли и в более значительных количествах – 10^4 - 10^5 гз/мл.

Анализ результатов лабораторного обследования на урогенитальные инфекции продемонстрировал, что инфекционные агенты преимущественно были представлены вирусами (папилломавирусная, герпетическая инфекции) – 129 человек (64,5 %), бактериальные патогены и простейшие (хламидии, трихомонады и другие) идентифицированы у 70 женщин (35 %). Сочетание вирусов и бактерий обнаружено почти в 20% случаев, у 11 (5,5%) человек патогены не были выявлены.

Выводы

Использование ПЦР в реальном времени позволило установить, что 64 % женщин с фоновыми и предраковыми процессами на шейке матки, имели те или иные нарушения биоценоза влагалища, а именно, угнетение молочнокислых бактерий на фоне повышения содержания представителей условно-патогенной флоры. Дисбаланс соответствующе-

го эпитопа, шейка матки может реально влиять на развитие и прогрессию цервикальных поражений. Набор реагентов «Фемофлор» позволяет определить, какие группы условно-патогенных микроорганизмов преимущественно вызывают дисбаланс. Нормализация микробиоценоза влагалища является необходимым этапом перед любым гинекологическим вмешательством, в том числе перед деструктивным лечением заболеваний эпителия шейки матки. Лабораторный тест «Фемофлор» предлагает принципиально новый подход по оценке физиологического равновесия и дисбаланса биоты, что дает возможность выбрать правильную терапию и контролировать ее проведение, определять критерии излеченности и прогноз заболевания. По нашему мнению, предлагаемый подход для исследования биоценоза урогенитального тракта у женщин с помощью набора реагентов «Фемофлор» должен быть важной составляющей тактики ведения гинекологических больных. ■

Литература:

1. Коханевич Е.В. Патология шейки и тела матки. Нежин: Гидромакс; 2009. 9–38.
2. Сидорова И.С., Леваков С.А. Фоновые и предраковые процессы шейки матки. М: Медицинское информационное агентство; 2006. 92.
3. Киселев В.И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки. М: Димитрийд График Групп; 2004. 182.
4. Burton JP, Cadieux P, Reid G. Improved understanding of the bacterial vaginal microbiota of women before and after probiotic instillation. *Appl. Environ Microbiol.* 2003; 69: 97–101.
5. Прилепская В.Н. Патология шейки матки и генитальные инфекции. М: МЕД пресс-информ; 2008. 384.
6. Сидорова И.С., Боровкова Е.И. Микрофлора половых путей у женщин репродуктивного возраста. М: Практическая медицина; 2007. 80.
7. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. М: ГЭОТАР-Медиа; 2008. 188.
8. Сидорова И.С., Боровкова Е.И. Микрофлора половых путей у женщин репродуктивного возраста. М: Практическая медицина; 2007. 62.
9. Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки. Методы ранней диагностики и лечения. *Акушерство и гинекология* 2007; 5: 73–76.
10. Шипицина Е.В., Мартикайнен З.М., Воробьева Н.Е. и др. Применение теста Фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища. *Журнал акушерства и женских болезней* 2009; 3: 44–50.
11. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. и др. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: состояние во время беременности. *Уральский медицинский журнал* 2010; 03(68): 103–107.
12. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. и др. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: изменения и коррекция во время беременности. *Уральский медицинский журнал* 2010; 03 (68): 108–112.
13. Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г. Фемофлор: пособие для врачей. М: 2010. 30