

## РЕЗУЛЬТАТИ КОМПЛЕКСНОГО БАКТЕРІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ПІХВИ ЗА УМОВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ВАГІНОЗУ

Одеський національний медичний університет

Незважаючи на певні успіхи, досягнуті в діагностиці та лікуванні інфекційно-запальних захворювань жіночих статевих органів, поширеність цих захворювань неухильно зростає та становить, за даними різних авторів, від 30 % серед стаціонарних і до 60–65 % серед амбулаторних хворих [2; 3]. Поряд з інфекціями, які передаються статевим шляхом, такими як сифіліс, гонорея, трихомоніаз, хламідіоз, пахова лімфогранульозма, герпетична і папіломавірусна інфекція та ін., вагомим клінічним значенням набувають умовно-патогенні мікроорганізми (УПМ) — мікробіоти урогенітального тракту [1]. Факультативно- й облигатно-анаеробні УПМ, що становлять резидентну мікрофлору урогенітального тракту, за умов реалізації певних екзо- й ендогенних факторів можуть призвести до гнійно-запального процесу статевих органів [5; 8]. Етіологічна структура збудників інфекційних процесів за останнє десятиліття істотно змінилася, що пов'язано з постійною еволюцією бактерій і залученням у патологічні процеси УПМ [2].

**Мета** дослідження — комплексне визначення широкого спектра УПМ на тлі нормальної флори у виділеннях із піхви жінок різного віку без ознак інфекційно-запального процесу,

але за наявності неспецифічного бактеріального вагінозу.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводилось у 298 жінок віком від 16 до 64 років. До 1-ї групи увійшли 53 клінічно здорові пацієнтки віком від 18 до 52 років. Лабораторним критерієм включення до цієї групи була величина індексу умовно-патогенної мікрофлори (ІУПМ) менше — 3 ум. од. До 2-ї та 3-ї груп увійшли жінки віком від 16 до 64 років з наявним інфекційно-запальним процесом у піхві різного ступеня вираженості. Критерієм диференціювання їх за групами був ІУПМ, який у 2-й групі становив від -3 до -1 ум. од., а у 3-й групі — більше -1 ум. од. Матеріал для дослідження брали шляхом зішкрібання із задньобочкової стінки піхви урогенітальним зондом у пробірку типу «Еппендорф». Біоценоз піхви досліджували методом полімеразної ланцюгової реакції з використанням набору реактивів «Фемофлор» (ТОВ «НВФ-ДНК-технологія») [4]. Нуклеїнові кислоти виділяли за допомогою набору реактивів «Проба-ГС»; ампліфікацію проводили з використанням ДТ-Lite (ТОВ «НВФ-ДНК-технологія»). За допомогою спеціального програмного забезпечення розраховували кількість (у геном-еквівалентах

на зразок — ГЕ/зразок) загальної бактеріальної маси (ЗБМ), лактобацил і кожної групи УПМ. Статистичну обробку даних проводили методами варіаційного та кореляційного аналізів із використанням пакета прикладних програм Statistica v. 10 (StatSoft, Inc.).

### Результати дослідження та їх обговорення

Якісний і кількісний склад досліджуваної мікрофлори у виділених групах подано у табл. 1. Оцінку проводили, враховуючи такі критерії [3; 7]:

— при відносному вмісті лактобактерій більше 90 %, а умовно-патогенних аеробів і анаеробів — менше 10 % від ЗБМ і при кількісному вмісті *Candida spp.*, *Mycoplasma hominis* та *genitium*, *Ureaplasma urealyticum* і *parvum* менше  $10^{4.5}$  ГЕ/зразок зараховували як нормоценоз [1; 6];

— у разі поєднання вмісту лактобактерій (більше 90 %) та грибів або мікоплазм (більше  $10^{4.5}$  ГЕ/зразок) мікрофлору піхви розцінювали як відносний нормоценоз;

— дисбаланс біоценозу I ступеня констатували при зниженні частки лактобактерій від 90 до 20 % на тлі підвищення вмісту аеробів (аеробний дисбаланс) або анаеробів (анаеробний дисбаланс), а II ступеня — нижче 20 % [1; 4].

Таблиця 1

Кількісний склад біоценозу виділень із піхви залежно від величини індексу умовно-патогенної мікрофлори, Іg ГЕ/зразок,  $M \pm m$

Мікроорганізм	Клінічний діагноз за вмістом ІУПМ		
	1-ша група — нормоценоз, n=53, ІУПМ ≤ -3	2-га група — дисбаланс І ст., n=128, ІУПМ > -3; ІУПМ ≤ -1	3-тя група — дисбаланс ІІ ст., n=117, ІУПМ > -1
Загальна бактеріальна маса	7,740±0,037	7,600±0,039*	6,774±0,076**
Нормофлора			
<i>Lactobacillus spp.</i>	7,622±0,039	7,009±0,044*	4,945±0,173**
Факультативно-анаеробні (аеробні) мікроорганізми			
<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	3,777±0,109	5,169±0,068*	5,179±0,072*
<i>Streptococcus spp.</i>	0,964±0,205	1,020±0,149	1,753±0,212**
<i>Staphylococcus spp.</i>	1,045±0,205	1,316±0,166	1,309±0,169
Облігатно-анаеробні мікроорганізми			
<i>Gardnerella vaginalis, Prevotella bivia, Porphyromonas spp.</i>	0,923±0,178	2,190±0,193*	3,950±0,267**
<i>Eubacterium spp.</i>	1,840±0,174	3,276±0,165*	4,150±0,202**
<i>Sneathia spp., Leptotrichia spp., Fusobacterium spp.</i>	0,000±0,000	0,465±0,112*	1,301±0,231**
<i>Megasphaera spp., Veillonella spp., Dialister spp.</i>	0,357±0,121	1,038±0,159*	2,704±0,264**
<i>Lachnobacterium spp., Clostridium spp.</i>	0,413±0,138	1,172±0,168*	1,590±0,201*
<i>Mobiluncus spp., Corynebacterium spp.</i>	1,951±0,143	3,010±0,106*	3,085±0,134*
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	0,504±0,130	1,184±0,157*	1,830±0,223**
<i>Atopobium vaginalis</i>	0,489±0,123	0,699±0,119	2,356±0,267**
Мікоплазми			
<i>Mycoplasma hominis + genitalium</i>	0,000±0,000	0,023±0,023*	0,467±0,173**
<i>Ureaplasma urealyticum + parvum</i>	1,104±0,228	1,622±0,023*	2,062±0,223**
Дріжджоподібні гриби			
<i>Candida spp.</i>	2,864±0,177	3,197±0,092	2,832±0,137#

Примітка. \* —  $p < 0,05$  при порівнянні показників 1-ї групи з 2-ю та 3-ю; # —  $p < 0,05$  при порівнянні показників 2-ї та 3-ї груп (за t-критерієм).

Аналіз отриманих даних дозволив оцінити стан біоценозу піхви у 1-ї групі як нормоценоз, ЗБМ у цих пацієнток коливалася від 7,0 до 8,0 Іg ГЕ/зразок (медіана 7,7). Вміст лактобактерій становив від 96,3 до 100,0 %, медіана — 98,7 %. Частота розподілу факультативно-анаеробних мікроорганізмів сягала 0,115 ум. од. Серед них най-

частіше траплялись ентеробактерії (98,1 %), стафіло- і стрептококи — 32,1 і 30,2 % відповідно. Однак у кількісному відношенні їх вміст не перевищував  $10^{4,7}$  (медіана для ентеробактерій —  $10^4$ ; для стафіло- і стрептококів — 0). Серед облігатно-анаеробних мікроорганізмів переважали *Mobiluncus spp.* + *Corynebacterium spp.* (81,1 %) і

*Eubacterium spp.* (69,8 %). У кількісному відношенні їх вміст не досягав  $10^4$  (медіана для *Mobiluncus spp.* + *Corynebacterium spp.* —  $10^{2,2}$ ; для *Eubacterium spp.* —  $10^{2,3}$ ). Кількість *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* становила до  $10^{3,9}$  (медіана — 0). Рідше траплялися інші представники УПМ. Мікроорганізми родів *Sneathia spp.* + *Leptotrichia spp.* + *Fusobacterium spp.* у пацієнток 1-ї групи не виявлено. Максимальний вміст *Ureaplasma urealyticum* + *parvum* дорівнював  $10^{4,6}$ ; медіана — 0, тимчасом як *Mycoplasma hominis* + *genitalium* у пацієнток 1-ї групи не виявлено. Дріжджоподібні гриби виявлено у відносно невеликій кількості (до  $10^{4,4}$ , медіана — 3,2), хоча необхідно відзначити, що у 75 % жінок 1-ї групи їх кількість перевищувала  $10^3$ .

Отримані результати не збігаються з даними інших авторів [1; 4], а саме: за умов нормоценозу піхви виявлено більший вміст *Mobiluncus spp.* + *Corynebacterium spp.* (81,1 %) і *Eubacterium spp.* (69,8 %) порівняно з даними [1], які становлять 30–38 %. Крім того, у наших дослідженнях абсолютна кількість УПМ не перевищувала  $10^{4,5}$ , а за висновками авторів інших досліджень, можливе підвищення їхнього вмісту при нормоценозі до  $10^5$  і вище [1; 4]. При проведенні кореляційного аналізу за показниками вмісту мікроорганізмів нами, на відміну від результатів інших дослідників [1; 4], були встановлені позитивні зв'язки між ЗБМ і вмістом лактобактерій (+0,98;  $p < 0,05$ ) і ентеробактерій (+0,51;  $p < 0,05$ ). Відповідно і показники вмісту лакто- й ентеробактерій мали позитивний кореляційний зв'язок (+0,47;  $p < 0,05$ ). Це, на нашу думку, вказує на наявність факторів взаємовигід-

ного співіснування лакто- й ентеробактерій, що забезпечує показники бактеріального обсі- меніння вмісту піхви.

У пацієток 2-ї групи ІУПМ становив від 3 до -1 lg GE/зразок, що дозволило визначити у них дисбаланс I ступеня, а ЗБМ варіювала від 6,0 до 8,0 lg GE/зразок (медіана 7,7). Частка лактобактерій становила від 73,1 до 99,4 %, медіана — 95,0 %. При порівнянні середніх величин було встановлено, що показник ЗБМ у 2-й групі був нижчим, ніж у 1-й, на 1,8 % ( $p < 0,05$ ). Виявлено зниження вмісту *Lactobacillus spp.* (на 8,0 %;  $p < 0,05$ ) при збільшенні майже усіх УПМ. Відповідно показник нормобіоти (ПНБ), який розраховується як різниця ЗБМ і кількості лактобакте- рій, був вищим у 2-й групі, ніж у 1-й (відповідно 0,1 і 0,6 lg GE/зразок). Як і в 1-й групі, з мак- симальною частотою виявлялися ентеробактерії (98,4 %), ста- філо- і стрептококи — у 34,4 і 28,1 % випадків відповідно. Кіль- кість ентеробактерій була істот- но вищою (на 36,9 %;  $p < 0,05$ ), ніж у 1-й групі. При цьому у всіх хворих їх абсолютна кіль- кість була більше  $10^4$  (медіана для ентеробактерій 5,2 lg GE/зразок). У 2-й групі, як і у 1-й, переважали *Mobiluncus spp.* + *Corynebacterium spp.* (87,5 %) і *Eubacterium spp.* (79,7 %); у кіль- кісному відношенні їх вміст був вищим, ніж у 1-й групі (відпо- відно на 54,3 і 78,0 %;  $p < 0,05$  в обох випадках). Медіана для *Mobiluncus spp.* + *Corynebacte- rium spp.* становила  $10^{3,3}$ ; для *Eubacterium spp.* —  $10^{3,5}$ . Вміст *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* пере- вищив  $10^4$  у 22,7 % жінок. Кіль- кість *Atopobium vaginalis* і *Pepto- streptococcus spp.* збільшилась, особливо останнього (на 134,9 %;  $p < 0,05$ ). Також нами частіше

виявлялися *Megasphaera spp.* + *Veillonella spp.* + *Dialister spp.* і *Lachnobacterium spp.* + *Clostridium spp.* — відповідно у 26,6 і 29,7 % випадків, що було ста- тистично значущо порівняно з 1-ю групою (на 76,1 і 96,7 % від- повідно;  $p < 0,05$  для обох випад- ків). На відміну від 1-ї групи, у 2-й з'явилися мікроорганізми видів *Sneathia spp.* + *Leptotrihia spp.* + *Fusobacterium spp.* Показ- ники мікоплазм і дріжджоподіб- них грибів суттєво не відрізня- лися від 1-ї групи, що не збіга- ється з даними літератури [1–4].

Отже, характерними для 2-ї групи пацієток виявилися зни- ження ЗБМ, кількості лактобак- терій і поява представників видів *Sneathia spp.* + *Leptotrihia spp.* + *Fusobacterium spp.* і *Mycoplasma hominis* + *genitalium*. Проведений нами аналіз пока- зав ослаблення позитивного ко- реляційного зв'язку між ЗБМ і вмістом лактобактерій (+0,62;  $p < 0,05$ ) та зникнення зв'язку між ЗБМ і вмістом ентеробак- терій. При цьому виявлено чис- ленні позитивні зв'язки серед- ньої сили між показниками фа- культивних і облігатних ана- еробів. Це, у свою чергу, вка- зує на появу в 2-й групі чинни- ків, які сприяють зростанню цих мікроорганізмів. Будь-яких кореляційних зв'язків між міко- плазмами та грибами, як і у 1-й групі пацієток, не виявлено.

Зміни, що є характерними для 2-ї групи, у 3-й групі були значно більш виражені: ІУПМ був більшим — 1 lg GE/зразок, що дозволило діагностувати дисбаланс II ступеня. Відзначе- но значне зниження ЗБМ, яке було меншим, ніж у 1-й групі, на 12,5 і меншим, ніж у 2-й, на 10,9 % ( $p < 0,05$  в обох випад- ках). Різко знижений вміст лак- тобактерій, частка яких ста- новила від 0 до 98,6 %. Вели- чина ЗБМ варіювала від 4,5 до

8,0 lg GE/зразок (медіана 7,5), ПНБ дорівнював 1,8 lg GE/зразок (перевищив показник у 1-й групі в 15,5 рази і в 2-й групі — у 3,1 разу;  $p < 0,05$  в обох ви- падках). Абсолютна кількість ентеробактерій порівняно з 2-ю групою не змінилася. Від- значено, що у більшості хворих (95,7 %) їх вміст перевищував  $10^4$  (медіана для ентеробактерій 5,1 lg GE/зразок). У 3-й групі діагностовано значну кількість стрептококів — на 81,8 і 71,8 % ( $p < 0,05$  в обох випадках) біль- ше, ніж у 1-й і 2-й групах відпо- відно.

Необхідно зазначити, що кіль- кість *Eubacterium spp.* переви- щувала показник не тільки у 1-й групі, але й у 2-й (на 26,7 %;  $p < 0,05$ ), а медіана для *Mobilun- cus spp.* + *Corynebacterium spp.* становила 103,2; для *Eubacteri- um spp.* — 103,5. З меншою час- тототою виявлялися *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* — 69,2 %. Вміст *Atopobium vaginalis* і *Pepto- streptococcus spp.* перевищував показники 1-ї групи в 4,8 і 3,6 ра- зу відповідно ( $p < 0,05$ ). *Mega- sphaera spp.* + *Veillonella spp.* + *Dialister spp.* та *Lachnobacterium spp.* + *Clostridium spp.* діагносто- вано у 51,3 і 37,6 % пацієток, що перевищує вміст даної мікро- флори не тільки у 1-й, але і в 2-й групі (у 2,6 разу;  $p < 0,05$ ). У 39,3 % жінок їх абсолютний вміст був більше  $10^4$ . *Ureaplasma urealyti- cum* + *parvum* виявлено у 45,3 % випадків. Появу *Mycoplasma ho- minis* + *genitalium* у 3-й групі від- значено в 11,1 % випадків, при цьому їх вміст вище  $10^4$  зафік- совано у 6,8 % жінок. Дріжджо- подібні гриби траплялися з тією ж частотою, що і в інших гру- пах (80,3 % випадків).

Таким чином, для 3-ї групи характерне ще більше, ніж в інших групах жінок, зниження ЗБМ, кількості лактобактерій



при збільшенні стафіло- та стрептококів і облигатних анаеробів. Виявлені позитивні кореляційні зв'язки між ЗБМ і вмістом лактобактерій (+0,67;  $p < 0,05$ ) та між показниками вмісту факультативних і облигатних анаеробів свідчать про пригнічення ростового впливу на біоценоз піхви. Це, у свою чергу, підтверджується численними позитивними зв'язками мікоплазм з анаеробами. Дані кореляційного аналізу показали, що з поглибленням ступеня дисбіозу збільшуються кількість і сила позитивних зв'язків УПМ. Можна припустити, що при бактеріальному вагінозі ця мікрофлора набуває властивості самопідтримки та прогресивної самостимуляції. Сімейство кандид кореляційних залежностей не утворювало в усіх трьох досліджуваних групах жінок.

## Висновки

1. За умов нормоценозу серед факультативно-анаеробної флори піхви переважають ентеробактерії, а облигатно-анаеробної — *Mobiluncus spp.* + *Corynebacterium spp.* і *Eubacterium spp.* Представники видів *Sneathia spp.* + *Leptotrihia spp.* + *Fusobacterium spp.* і *Mycoplasma hominis*

+ *genitalium* при нормоценозі відсутні.

2. Для дисбіозу I ступеня характерне зниження ЗБМ і кількості лактобактерій на тлі збільшення вмісту анаеробів, у тому числі *Sneathia spp.* + *Leptotrihia spp.* + *Fusobacterium spp.* і *Mycoplasma hominis* + *genitalium*.

3. При дисбіозі II ступеня зафіксовані найменші показники ЗБМ і лактобактерій при значному збільшенні абсолютної кількості стрептококів й облигатних анаеробів. За даними кореляційного аналізу виявлено, що з поглибленням ступеня дисбіозу зменшується пряма залежність ЗБМ і кількості лактобактерій при збільшенні кількості та сили позитивних зв'язків показників УПМ (але не дріжджоподібних грибів), що свідчить про процеси самопідтримки та стимуляції при бактеріальному вагінозі.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма?* / Е. С. Ворошилина, А. В. Тумбинская, А. Е. Донников [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 1. – С. 57–65.
2. *Мавзютов А. Р.* Бактериальный вагиноз: этиопатогенетические аспекты / А. Р. Мавзютов, К. Р. Бондарен-

ко, В. М. Бондаренко // ЖМЭИ. – 2007. – № 6 (33). – С. 93–100.

3. *Тихомиров А. Л.* Бактериальный вагиноз: некоторые аспекты этиологии, патогенеза, клиники, диагностики и лечения / А. Л. Тихомиров, Ч. Г. Олейник // Гинекология. – 2004. – Т. 2. – С. 62–65.

4. *Болдырева М. Н.* Фемофлор: исследование биоценоза урогенитального тракта у женщин методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени: метод. пособие для лаборантов / сост.: М. Н. Болдырева, А. Е. Донников, Л. В. Тумбинская; Ин-т иммунологии ФМБА России. – М., 2010. – 42 с.

5. *Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в режиме реального времени* / М. Н. Болдырева, Е. В. Липова, Л. П. Алексеев [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. LVIII, вып. 6. – С. 36–42.

6. *Macklaim J. M.* Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by *Lactobacillus iners* in health and dysbiosis / J. M. Macklaim, A. D. Fernandes, J. M. Di Bella [et al.] // Microbiome. – 2013, Apr. 12. – Vol. 1 (1). – P. 12.

7. *Nugent R. P.* Reliability of diagnosing bacterial vaginosis in improved by a standardized method of gram stain interpretation / R. P. Nugent, M. A. Krohn, S. L. Hiller // J. Clin. Microbiol. – 1991. – Т. 29, N 2. – P. 297–301.

8. *Ravel J.* Daily temporal dynamics of vaginal microbiota before, during and after episodes of bacterial vaginosis / J. Ravel, R. M. Brotman, P. Gajer // Microbiome. – 2013. – Vol. 2, N 1 (1). – P. 1–29.

УДК 618.15-002:616-093-/098

О. А. Грузевський, М. П. Владимірова

## РЕЗУЛЬТАТИ КОМПЛЕКСНОГО БАКТЕРІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ПІХВИ ЗА УМОВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ВАГІНОЗУ

З метою визначення кількісного та якісного складу умовно-патогенної мікрофлори вмісту піхви при неспецифічному бактеріальному вагінозі з використанням полімеразної ланцюгової реакції обстежено 298 жінок від 16 до 64 років. За умов нормоценозу з переважанням ентеробактерій індекс умовно-патогенної мікрофлори становив 3 lg GE/зразок, а кількість умовно-патогенних мікроорганізмів не перевищувала  $10^{4,5}$  при відсутності мікоплазм. Водночас при дисбіозі I та II ступеня індекс умовно-патогенної мікрофлори становив від 3 до 1 та менше 1 lg GE/зразок відповідно. Також діагностовано значне зниження загальної бактеріальної маси та лактобацил (більш виражені при дисбіозі II), появу мікоплазм за умов майже незмінного вмісту кандид.

**Ключові слова:** бактеріальний вагіноз, полімеразна ланцюгова реакція, нормоценоз, дисбіоз.

UDC 618.15-002:616-093-/098

О. А. Грузевский, М. П. Владимірова

## THE RESULTS OF COMPLEX BACTERIOLOGICAL EXAMINATION OF VAGINAL SECRETION IN BACTERIAL VAGINOSIS

In order to determine qualitative and quantitative content of vaginal secretion in non-specific bacterial vaginosis 298 women aged from 16 to 64 were examined. PCR was used for this examination. In normocenosis and enterobacteria prevalence index of conditionally-pathogenic microflora wasn't more than 3 lg GE/sample, and quantity of conditionally-pathogenic microorganisms wasn't more than  $10^{4,5}$  in the absence of mycoplasmas. In dysbiosis of I and II degree index of conditionally-pathogenic microflora was from 3 to 1 and less than 1 lg GE/sample correspondingly; valuable decreasing of general bacterial mass was diagnosed. Simultaneously, decreasing of *Lactobacillus* quantity (more expressed in dysbiosis-II) appearance of mycoplasmas under condition of constant level of *Candida* was revealed.

**Key words:** bacterial vaginosis, PCR, normocenosis, dysbiosis.