

УДК 618.15-008.8: 618.13-002-036.12-085.33

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ ВЛАГАЛИЩА И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ САЛЬПИНГООФОРИТАМИ

М.В. Кажина, А.И. Жмакин, Л.П. Титов

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Институт микробиологии и эпидемиологии НАН РБ

*Изучен видовой состав микроорганизмов влагалища здоровых и больных хроническими сальпингоофоритами до и после лечения. Показано, что антибиотикотерапия не приводит к полному клиническому выздоровлению, усугубляя явления дисбиоза во влагалищном биотопе. Бактериологические исследования продемонстрировали изменения в микробиоценозе влагалища, выражающиеся в уменьшении числа лактобацилл, увеличении количества *E.coli*, появления *S.aureus* в доминирующих концентрациях, повышение потенциала бактерий симбионтов.*

Ключевые слова: сальпингоофорит, микробиоценоз влагалища.

*The composition of vaginal microflora in health people and in patients with chronic salpingoophoritis has been studied before and after treatment. It has been shown that antibiotic therapy doesn't lead to complete recovery and simultaneously causes and worsens colpodisbiotic pattern. Bacteriological investigations revealed the changes in vaginal microbiocenosis manifesting in the decreased amount of *Lactobacillus spp.*, the increased amount of *E.coli*, the development of *S. aureus* in dominating concentrations, the increased potential of the bacteria of symbiotes.*

Key words: salpingoophoritis, colpomicrobiocenosis.

Хронические сальпингоофориты (ХС) являются одной из самых распространенных причин обращения женщин к гинекологу [10]. Все большее значение приобретают заболевания со стертой клинической картиной и хроническим течением, обусловленные в большинстве случаев микробными ассоциациями, ведущую роль в которых занимают условно патогенные микроорганизмы [8, 12, 13]. Развитие воспалительного процесса во многом определяется снижением иммунной реактивности организма [2, 5] и сопровождается микробным дисбиозом влагалища, который проявляется значительным снижением молочнокислых бактерий, играющих важную роль в поддержании колонизационной резистентности влагалища [3, 8]. Многочисленные работы последних лет показали, что на фоне широчайшей репрезентативности микроорганизмов в репродуктивной системе женщин выявляется селективность заселения микроорганизмами различных биотопов полового тракта [4, 6]. Одновременно показано, что нижний отдел половых органов обладает наиболее выраженными барьерными свойствами в плане торможения распространения патогенной и условно патогенной микрофлоры восходящим путем [13]. Политропность поражения репродуктивной системы [6, 12] и широкий спектр микрофлоры, относящийся более чем к 20 микробным таксонам [4], определяют значи-

мость индивидуального подхода к методам лечения и реабилитации ХС. До сих пор дискуссионными остаются патогенетические механизмы, формирующие дисбаланс влагалищной микрофлоры, и особенности течения ХС, которые приводят к возникновению рецидивов после традиционного лечения у 50–75 % пациенток [5].

Несмотря на значительные достижения науки и практики в борьбе с инфекцией, ХС остаются одной из наиболее значимых проблем гинекологии [6, 9, 10, 11]. С одной стороны, существуют четкие подходы к традиционному лечению обострений ХС с включением широкого спектра антибиотиков [1, 10], с другой стороны, ряд авторов отмечает, что хронизация процесса связана с осложнениями антибактериальной терапии острых воспалительных заболеваний гениталий [2, 4, 10]. Антибиотикотерапия усугубляет дисбактериоз влагалища, проявляющийся в значительном снижении концентрации лактобактерий и общего количества микробных таксонов [4], в связи с чем становится очевидным вопрос о проведении дополнительной корригирующей терапии, направленной на восстановление нормального микробиоценоза у больных ХС.

Цель исследования: изучить состав вагинальной микрофлоры у женщин с ХС и оценить влияние аутовакциноотерапии на восстановление микробного биоценоза у больных с генитальной патологией.

КАЖИНА Мария Владимировна - доцент кафедры акушерства и гинекологии;

ЖМАКИН Андрей Игоревич - доцент, заведующий кафедрой микробиологии;

ТИТОВ Леонид Петрович - директор института микробиологии и эпидемиологии НАН РБ, член-корр.

Методы исследования

Под наблюдением находились 39 женщин репродуктивного возраста, более 3-х лет страдающие ХС, и 10 относительно здоровых женщин (студентки), которые составили группу сравнения (контроль). Проведено комплексное клиническое и лабораторное обследование наблюдаемого контингента. Диагноз ХС верифицирован клинически, бактериологически, а также на основании данных анамнеза, жалоб, объективных данных и результатов лабораторных и инструментальных методов исследования. Всем больным проведена комплексная базовая антибиотикотерапия с использованием метронидазола 250 мг 4 р/сутки, ампициллина 0.5 г в/мыш через 6 час; или метронидазола 250 мг х 2-4 р/сутки, гентамицина 80 мг в/мыш с последующим курсом реабилитационной физиотерапии. Часть больных с наиболее частыми обострениями (3-4 раза в год) дали индивидуальное согласие на проведение аутовакцинотерапии в период ремиссии (14 больных). В эту группу вошли больные, у которых из секрета влагалища были выделены патогенные штаммы *S. aureus*, *S. epidermidis* и *C. albicans* в период обострения воспалительного процесса. Из выделенных микроорганизмов и грибка приготавливались индивидуальные аутовакцины, и проводился курс иммунотерапии путем постепенного внутрикожно-подкожного введения аутовакцины в возрастающих количествах от 0.05 . . до 1.0 мл с интервалом 24-48-72 часа в зависимости от индивидуальной реакции организма на введение бактериального антигена (Кажина М.В., Позняк С.Б., Титов Л.П. и др. Инструкция по применению аутовакцины, 2003). Все обследованные женщины были разделены на 3 группы: после антибиотикотерапии, после аутовакцинотерапии и здоровые – группа сравнения. Для оценки микробиоценоза влагалища проводили бактериологическое исследование содержимого влагалища у всех обследованных больных - до лечения и после лечения (антибиотикотерапия или аутовакцинотерапия). Забор выделений из влагалища осуществлялся путем лаважа. В литотомической позиции пациентки во влагалище помещалось зеркало Симпса. Влагалище заполнялось стерильным 0.9% раствором хлорида натрия в количестве 10 мл с экспозицией лаважа 30 сек. Стерильным шприцем лаважное содержимое извлекалось в том же объеме и помещалось в стерильную пробирку. Материал немедленно транспортировался в бактериологическую лабораторию. Из исследуемого материала готовили десятикратные разведения от 10^2 до 10^8 на стерильном 0.9% растворе хлорида натрия, и из каждого разведения делали посеvy на плотные и жидкие питательные среды. Всего проделано 1566 анализов. Диагностику бактериальных

биотопов проводили культуральным методом на различных питательных средах (Эндо, ЖСА, МПБ, Сабуро, Рогоза, кровяной агар и др.) с последующей биохимической идентификацией выделенных культур общепринятыми методами, в том числе с использованием наборов фирмы «Lachema» (Чехия). Для выделения лактобактерий использовали специальную среду Rogosa (Англия). Количество бактерий рассчитывалось в десятичных логарифмах (lg КОЕ/мл лаважа). Обработку результатов исследования осуществляли с применением вариационной статистики. Вычисляли среднее значение величины, ошибку средней, уровень значимости различий. Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Анализ течения болезни у пациенток выявил следующие клинические проявления данной патологии. Наиболее характерными жалобами были гнойные выделения из половых путей, повышение температуры тела, постоянные боли внизу живота, проявления общей интоксикации (тахикардия, утомляемость, общая слабость). У всех больных обострение воспалительного процесса сопровождалось изменением лабораторных данных, прежде всего острофазовых показателей крови – лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и СОЭ, что согласуется с литературными данными [7]. Вышеописанный симптомокомплекс вкупе с бактериоскопическим исследованием влагалищного мазка (увеличение количества лейкоцитов свыше 15-20 в поле зрения, уменьшение палочковой флоры, увеличение кокковой флоры, грибов) являются основой для постановки диагноза обострения ХС. Комплексная противовоспалительная терапия наряду с дезинтоксикационными, десенсибилизирующими средствами включала и антибактериальные препараты (сочетание метронидазола с ампициллином, метронидазола с гентамицином). Антибиотики использовали без занижения разовой и суточной дозы. В результате такого лечения у пациенток наблюдалось купирование симптомов, но не полное их исчезновение. Больных выписывали домой в состоянии улучшения здоровья. К моменту выписки из стационара сохранялся хотя бы один из симптомов у 87% больных. Чаще других это была боль внизу живота, субфебрилитет, состояние вагинального дискомфорта (клиника «следовых» реакций). Подход к лечению воспалительной патологии с целью тотальной санации во многом определил доминирование дисбиотических изменений полового тракта, когда восстановление эубиоза становится весьма проблематичным. Микробиоценоз влагалища оценивали по наличию индигенной микрофлоры у здоровых женщин и факультативной анаэробной условно-патогенной

микрофлоры у больных ХС до начала лечения и после лечения.

Результаты исследования материала содержимого влагалища продемонстрировали достаточно широкий спектр микрофлоры, отнесенный к 15 различным микробным таксонам (таблица). У женщин обеих групп (здоровые и больные) в вагинальном секрете монокультуры регистрировались относительно редко (3%), как правило, наблюдались ассоциации микроорганизмов. В структуре изолятов здоровых женщин состав индигенной микрофлоры колебался от 10^3 до 10^6 КОЕ/мл. В составе этого биотопа высевались грампозитивные стрептоэнтеро- и стафилококки. Удельный вес всех энтеробактерий был незначительный. Количество лактозопозитивной *E.coli* колебалось от 10^2 до 10^3 КОЕ/мл, а средний десятичный логарифм был равен 2.5 ± 0.15 lg КОЕ/мл. Уровень лактозонегативной кишечной палочки был на 20% ниже. Доминирующими бактериями в микробном пейзаже клинически здоровых женщин являлись лактобактерии, которые выделялись в количестве от 10^7 до 10^9 КОЕ/мл, а отношение лактобактерий к банальной микрофлоре ровнялось 2.0 ± 0.19 , то есть в два раза больше всех других микробных таксонов. Это количественное преобладание молочнокислых бактерий обеспечивало защитную концентрацию ионов водорода во влагалище здоровых женщин (рН 4.0 ± 0.14). Преобладание лактобактерий во влагалище обеспечивало основную роль этих микробов в создании колонизационной резистентности слизистого секрета влагалища. У больных ХС при поступлении наблюдались изменения в микробном пейзаже влагалища, выражающиеся в уменьшении числа видов, увеличении энтеробактериальной флоры и грамположительных вирулентных стафилококков. Во всех случаях микрофлора была представлена ассоциациями различных микроорганизмов, причем в 69 % доминировали *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E.coli*. Достоверно увеличилось содержание лактозонегативной кишечной палочки (таблица). Средний десятичный логарифм лактозопозитивных *E.coli* был на 30 % ниже по сравнению с контрольными данными и составил 1.75 ± 0.27 lg КОЕ/мл против 2.0 ± 0.15 ($p < 0.01$), а количество лактозонегативной флоры возросло на 50 % - 3.01 ± 0.11 против 2.0 ± 0.11 ($p < 0.001$) в группе сравнения. Общее количество банальной микрофлоры быстрорастущей повысилось на 14% ($p < 0.05$), а медленно растущей - на 12%. На фоне увеличения условно-патогенной микрофлоры (стафилококки, кишечная палочка) в вагинальном смыве больных наблюдалось значительное снижение или полное отсутствие лактобактерий. Средний десятичный логарифм числа лактобацилл у больных ХС был равен 1.58 ± 0.25 lg КОЕ/мл, что составляет 19% от общего количества молочнокислых бактерий. При индивидуальном анализе у 42% пациентов установлено полное отсутствие лактобацилл. Как видно из представленных результатов, хронический воспалительный процесс органов малого таза характеризуется дефицитом лактофлоры и наличием условнопатогенных микроорганизмов (энтеробактерии, золотистый стафилококк, что соответствует дисбиотическому состоянию влагалища. Литературные данные свидетельствуют о первичности и причинности вагинального дисбиоза в развитии воспалительного процесса [2].

Таблица. Сравнительная характеристика микрофлоры влагалища (lg КОЕ/мл; $M \pm m$) у больных с ХС при различных методах лечения

Исследуемые показатели	Группы обследования			
	Здоровые контроль n=10	До лечения n=39	Антибиотикотерапия n=13	Аутовакцино-терапия N=14
рН – среды	4.1 ± 0.14	5.6 ± 0.13	5.5 ± 0.34	4.7 ± 0.16
<i>E Coli</i> L+ L-	2.5 ± 0.15 2.0 ± 0.11	1.75 ± 0.27 3.01 ± 0.11 *	1.31 ± 0.23 ---	0.78 ± 0.19 ---
БМ Б.р.- 1 сутки М.р.-2 сутки	3.0 ± 0.17 3.5 ± 0.13	3.42 ± 0.14 * 3.91 ± 0.11	3.23 ± 0.51 2.31 ± 0.32 *	2.9 ± 0.23 3.2 ± 0.44
Лакто-бактерии	8.0 ± 0.53	1.58 ± 0.25 *	1.0 ± 0.27 *	3.8 ± 0.24 *
Соотношение ЛБ / БМ	2.0 ± 0.19	0.40 ± 0.09 *	0.43 ± 0.11 *	1.2 ± 0.27 *

Примечание: БМ – банальная микрофлора (энтерококки, стафилококки-эпидермальный и золотистый, стрептококки, факультативные анаэробы, бактероиды, дрожжеподобные грибы рода *Candida*)
Б.р. – быстрорастущая микрофлора 1-е сутки
М.р. - медленно растущая микрофлора -2-е сутки
Л.Б. - лактобактерии

рофлоры (стафилококки, кишечная палочка) в вагинальном смыве больных наблюдалось значительное снижение или полное отсутствие лактобактерий. Средний десятичный логарифм числа лактобацилл у больных ХС был равен 1.58 ± 0.25 lg КОЕ/мл, что составляет 19% от общего количества молочнокислых бактерий. При индивидуальном анализе у 42% пациентов установлено полное отсутствие лактобацилл. Как видно из представленных результатов, хронический воспалительный процесс органов малого таза характеризуется дефицитом лактофлоры и наличием условнопатогенных микроорганизмов (энтеробактерии, золотистый стафилококк, что соответствует дисбиотическому состоянию влагалища. Литературные данные свидетельствуют о первичности и причинности вагинального дисбиоза в развитии воспалительного процесса [2].

Проведение комплексной антибиотикотерапии предусматривало, кроме исчезновения основных клинических симптомов, восстановление нормального микробиоценоза у больных ХС. В результате проведенных бактериологических исследований было установлено, что у больных после лечения (антибиотикотерапия) изменились показатели микробной обсемененности, что проявлялось в выраженном снижении содержания важнейших представителей нормальной микрофлоры генитального тракта (таблица). Так, лактобактерии во влагалищном содержимом у больных после антибиотикотерапии выделялись в незначительном количестве от 10^1 до 10^2 КОЕ/мл, а у 20% больных генитальные изоляты были стерильными. Наряду с

этим отмечалось достоверное снижение медленно-растущей банальной микрофлоры на 44% ($p < 0.05$). Количество *E. coli* лактозопозитивной снизилось на 48% ($p < 0.01$), а лактозонегативная кишечная палочка не выделялась вообще. Концентрация ионов водорода не нормализовалась (5.0–6.0).

Исследования, проведенные после окончания введения аутовакцины, выявили значительные положительные изменения в микробном пейзаже влагалища. Прежде всего это отразилось в увеличении частоты выделения и количественном составе лактобактерий. Лактобактерии были выделены у всех обследуемых больных, кроме одной пациентки. При индивидуальном анализе установлен различный количественный уровень лактобацилл. У подавляющего большинства (71%) их общее количество колебалось от 10^3 до 10^4 КОЕ/мл вагинального секрета, у 14.3% больных концентрация лактобактерий достигла контрольной величины и составила 10^7 КОЕ/мл, а у 7.2% больных концентрация молочнокислой палочки была низкой, поэтому средняя величина лактобактерий, выраженная в десятичном логарифме, не достигала контрольных величин и составляла $3.8 \pm 0.24 \lg$ КОЕ/мл. Можно предположить, что сниженный восстановительный потенциал колонизации влагалища молочнокислыми микробами связан с массивной антибактериальной терапией, которая проводилась всем больным до аутовакциноотерапии. Одновременно отмечалось снижение уровней условно-патогенных микроорганизмов. Так, снизилась частота выделения *E. coli*. Лактозопозитивная кишечная палочка была выделена у 28% больных в концентрации от 10^1 до 10^3 КОЕ/мл, а лактозонегативная *E. coli* была обнаружена только у 2 больных в концентрации $< 10^2$ КОЕ/мл вагинального секрета. После аутовакциноотерапии увеличилось количество микробных таксонов и нормализовалось количество банальной микрофлоры (грамположительные стрептококки, молочнокислые бактерии). У 36% больных после аутовакциноотерапии быстрорастущая банальная микрофлора (1-е сутки роста) выделялась в концентрации от 10^4 до 10^7 КОЕ/мл. Медленно-растущая (2-е сутки) банальная микрофлора у 28% больных высевалась в концентрации от 10^4 до 10^8 КОЕ/мл. При этом отмечалась полная элиминация золотистого стафилококка и дрожжеподобного гриба - *C. albicans*. Средние величины концентрации банальной микрофлоры, рассчитанные в десятичных логарифмах, нивелируют картину восстановительной динамики микробиоты влагалища после аутовакциноотерапии.

Таким образом, полученные данные позволяют констатировать, с одной стороны, значительное

разнообразие микрофлоры, выделяемой из влагалища женщин, имеющих в анамнезе воспалительные заболевания органов малого таза. С другой стороны, на этом фоне у больных при поступлении их в стационар и после антибиотикотерапии наблюдалось значительное снижение лактобактерий, рост доли стерильных проб и существенное уменьшение количества микробных таксонов, что может быть объяснено определенной селекцией инфекционных агентов под влиянием действующих в данных биотопах факторов - продуцентов антибиотиков [1, 6]. После проведения аутовакциноотерапии лактобактерии были обнаружены у 93% больных, исчезли условно-патогенные микробы, наблюдалась восстановительная динамика нормальной микрофлоры гениталий, нормализовалась концентрация ионов водорода ($pH = 4.7$).

Полученные данные, во-первых, подтверждают мнение о важной роли дисбиотических сдвигов в микробиоценозе влагалища как фактора риска хронизации воспалительного процесса. Во – вторых, указывают на то, что использование антибиотиков при ХС утрачивает значение главного и основного лечебного фактора и обосновывает необходимость включения в программу лечебных мероприятий средств, коррегирующих восстановительный процесс микробиоты влагалища, таких, как аутовакциноотерапия.

Литература

1. Абрамченко В.В. Антибиотики в акушерстве и гинекологии: руководство для врачей. Пб.: Спец. Лит., 2001.
2. Бухарин О.В., Константинова О.Д., Кремлева Е.А. Характеристика вагинальной микрофлоры при внутриматочной контрацепции // Журн. микробиол., 1999, № 4, С.63-65.
3. Вальшев А.В., Елагина Н.Н., Бухарин О.В. Анаэробная микрофлора женского репродуктивного тракта // Журн. микробиол., 2001, № 4, С.78-84.
4. Дерябин Д.Г., Минаков А.А., Борисов С.Д. Спектр микрофлоры, изолируемой из различных отделов репродуктивного тракта женщин // Журн. микробиол., 2001, № 4, С.84-86.
5. Долгушина В.Ф., Смольникова Л.А. Долгушин И.И. Состояние факторов местной защиты репродуктивного тракта при вагинозе у беременных // Журн. микробиол., 2001, № 4, С.89-93.
6. Занько С.Н. Хроническое воспаление придатков матки (этиология, патогенез, лечение, профилактика) // Автореф. докт. дисс., Минск, 1998.
7. Кажина М.В., Позняк С.Б. Стафилококковая аутовакциноотерапия при дисбиозе половых путей, Гродно, 2002.
8. Коршунов В.М., Кафарская Л.И., Багирова М.Ш. и др. Коррекция вагинальной микрофлоры у больных с папилломавирусной инфекцией в ассоциации с цервикальной интраэпителиальной неоплазией с помощью нового бактериального препарата «Жмелик» // Журн. микробиол., 1995, № 4, С.91-94.
9. Кулаков В.И., Воропаева С.Д., Анкирская А.С. Облигатно-анаэробные микроорганизмы при акушерско-гинекологической патологии // Вестник Рос. АМН, 1996, № 2, С.26-29.
10. Стрижаков А.Н., Подзолкова Н.М. Гнойные воспалительные заболевания придатков матки, М., 1996.
11. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология: руководство для врачей, М., 2002.
12. Теплова С.Н., Медведев Б.И., Узлова Т.В. Этиология и характер системных нарушений иммунитета при трубно-перитонеальном бесплодии // Журн. микробиол., 2001, № 4, С. 93-95.
13. Paavonen J., Teisala K., Heinonen P.K. et al. Microbiological and histopathological findings in acute pelvic inflammatory disease // Br. J. Obstet. Gynecol., 1987, 94:454-460.