

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОМ РАЗРЫВЕ ОКОЛОПЛОДНЫХ МЕМБРАН ПРИ СРОКАХ ГЕСТАЦИИ 22-34 НЕДЕЛИ

Дятлова Л.И.

Перинатальный центр Саратовской области, Саратов, e-mail: larisady@mail.ru

Проведен анализ результатов микроскопического, микробиологического и молекулярно-биологического исследований содержимого влагалища у пациенток с родовым излитием околоплодных вод при беременности 22-34 недели. У большинства обследуемых выделялись как факультативные, так и облигатные анаэробы. Нормобиоценоз с преобладанием лактобацилл определен только у 15,3% пациенток.

Ключевые слова: преждевременный разрыв околоплодных мембран, микробиоценоз влагалища

FEATURES VAGINAL MICROBIOTICENOSIS FOR RUPTURE OF MEMBRANES OF 22-34 WEEKS

Dyatlova L.I.

Perinatal Center Caratovskoy region, Saratov, e-mail: larisady@mail.ru

The analysis of the results of the microscopic, microbiological and molecular biological research contents of the vagina in women with prenatal amniorrhea pregnancy 22-34 weeks. The majority of subjects were allocated as optional and obligate anaerobes. Normobiotsenoz dominated by lactobacilli is defined only in 15.3% of patients.

Keywords: premature rupture of membranes, vaginal microbiocenosis

Ведущими проблемами современного акушерства и педиатрии являются с одной стороны прогнозирование и профилактика преждевременного разрыва околоплодных оболочек, а с другой – патогенетическое обоснование возможности пролонгирования беременности при указанной патологии. Как известно, родовое излитие околоплодных вод в сроках гестации 22-34 недели инициирует 30-56% преждевременных родов [1]. Вопросы этиологии и патогенеза преждевременного разрыва околоплодных мембран остаются недостаточно изученными. Ряд авторов считают, что причиной изменения прочности плодных оболочек являются деструктивные изменения аргирофильно-волокнуистой структуры соединительной ткани или локальные дефекты оболочек как первичные, вследствие анатомических аномалий, так и вторичные, обусловленные недостаточностью обмена витаминов, а также меди, которая участвует в процессах созревания коллагена и эластина оболочек [2].

Многие исследователи одной из ведущих причин родового излития околоплодных вод считают воспалительные изменения плодных оболочек. Так доказана возможность инфицирования оболочек восходящим путем из цервикального канала. В одной трети наблюдений при преждевременном разрыве мембран над внутренним зевом выявлена лейкоцитарная инфильтрация мембран. Предполагается значимость микробных протеаз в разрушении коллагена амниотических мембран [4].

Таким образом, определение микробного пейзажа микрофлоры влагалища при родовом излитии околоплодных вод в эти сроки беременности приобретает особую значимость для выработки антибактериальной программы при пролонгировании беременности на фоне нарастания безводного промежутка.

Цель исследования. Определить особенности микробиоценоза влагалища у пациенток с преждевременным излитием околоплодных вод при сроках беременности 22-34 недели и установить патогенетическую взаимосвязь с развитием воспалительных процессов в системе мать-плацента – плод.

Материалы и методы исследования

Для решения поставленной задачи были сформированы 2 группы пациенток. В первую группу вошли 72 пациентки, беременность которых осложнилась преждевременным излитием околоплодных вод в 22-34 недели гестации. В группу сравнения составили 40 пациенток с физиологически протекающей беременностью в аналогичные сроки гестации. В исследовании использованы микроскопические, микробиологические и молекулярно-биологические методы.

Микроскопическое исследование вагинального препаратов, окрашенных метиленовым синим и по Граму, проводили в проходящем свете при увеличении микроскопа $\times 1000$. Оценивали клеточный состав вагинального отделяемого (полиморфноядерные лейкоциты, вагинальный эпителий), отношение лейкоцитов к эпителиальным клеткам, морфотипы микроорганизмов, таких как лактобациллы, дрожжеподобные

грибы, трихомонады, грамположительные и грамотрицательные бактерии.

Бактериологическое исследование проводили классическим методом путем посева клинических материалов на кровяной агар (с 5 % дефибрированной крови человека), тиогликолевый и сабуро бульоны с дальнейшей идентификацией выделенных микроорганизмов. Для молекулярно-биологического исследования использовали тест «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва), исследование проводили методом ПЦР-РВ.

Как известно, микробиоценоз влагалища представляет собой совокупность постоянно обитающих и транзитных микроорганизмов. Постоянная, индигенная микрофлора, доминирует по численности популяции, хотя количество видов, представляющих ее, невелико в отличие от видового разнообразия транзитных микроорганизмов (*Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacteroides-Prevotella* spp., *Mycosoccus* spp.), общая численность которых в норме не превышает 3-5 % от всего пула, составляющего микроценоз. Благодаря преобладанию резидентной микрофлоры, представленной у женщин репродуктивного возраста обширной группой лактобацилл, которые за счет специфической адгезии на эпителиальных образуют микропленьку, обеспечивающую колонизационную резистентность генитального тракта.

Во время беременности под влиянием гормонов желтого тела эластичность клеток промежуточного

слоя слизистой оболочки влагалища увеличивается, синтез гликогена в них осуществляется с максимальной интенсивностью, что благоприятно действует на синтез лактобацилл. Однако в результате снижения уровня кислотности содержимого влагалища создаются благоприятные условия для роста транзитных микроорганизмов таких как микоплазмы, дрожжеподобные грибы, стафилококки. Тем не менее, к моменту родов возрастает насыщение организма беременной эстрогенами, восстанавливается кислотность влагалищного содержимого, снижается количество облигатных анаэробов, таких как бактероиды и пептострептококки, и увеличивается число лактобацилл, обеспечивающих колонизационную резистентность генитального тракта.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного нами микроскопического исследования влагалищного содержимого у пациенток, беременность которых осложнилась ПРОМ (преждевременный разрыв околоплодных мембран) при сроке гестации 22-34 недели, выявлено: первая степень чистоты влагалища констатирована в 51,4 % наблюдений по сравнению с 27,5 % группы контроля.

Таблица 1

Показатели микроскопического исследования отделяемого влагалища у пациенток основной и группы сравнения

Содержимое влагалища	Группа сравнения (физиологически протекающая беременность, срок гестации 22-34 нед.) (n=40)		Основная группа (беременность осложненная ПРОМ при сроке гестации 22-34 нед.) (n=72)		Различие показаний между группами
	абс.	Частота выявления %	абс.	Частота выявления %	
ЭК>Л (эпителий/лейкоциты)	36	80	48	66,7	13,3
Л>ЭК	4	10	24	33,3	23,3
Лейкоцитов <10	15	37,5	37	51,4	13,9
Лейкоцитов 10-20	17	42,5	24	33,3	9,2
Лейкоцитов >20	8	20	11	15,3	4,7
Только лактобациллы	25	62,5	11	15,3	47,5
Лактобациллы преобладают	6	15	15	21	6
Лактобациллы в меньшинстве	9	22,5	24	33,3	10,8
Микроорганизмы не обнаружены	2	5	9	12,5	7,5
Преобладают другие микроорганизмы	10	25	13	18,1	6,9
Кокковая флора	2	5	11	15,3	10,3
«Ключевые» клетки	6	15	0	0	15
Дрожжеподобные грибы, псевдомонеллы	2	5	0	0	5
Трихомонады	0	0	2	2,8	2,8
Внутриклеточные и внеклеточные Гр.(-) диплококки	0	0	0	0	0

Вторая степень чистоты определена в 42,5% в группе контроля и в 33,3% обследования в основной группе. Признаки воспалительного процесса влагалища (лейкоцитов более 20 в поле зрения) обнаружены у 20% пациенток группы контроля и 15,3% – основная группа (табл. 1).

В основной группе не выявлены маркеры бактериального вагиноза – «ключевые» клетки, а так же мицелии дрожжевых грибов. В тоже время, данные микроорганизмы обнаружены в 15% и 5% (соответственно) в группе сравнения. В группе исследования у двух пациенток выделены трихомонады, однако в связи с незначительным процентом выделения значимость их не велика. Обращает на себя внимание некоторое преобладание кокковой флоры во влагалище у пациенток основной группы. Таким образом, ожидаемых признаков инфекции, обладающей деструктивным воздействием на околоплодные мембраны, при микроскопическом исследовании вагинального содержимого обнаружено не было. Однако следует вспомнить об антибактериальной активности околоплодных вод после 20 недель беременности. В частности концентрация содержащихся в них лизоцима, трансферрина, р-лизина, циклопептидов, комплемента и IgG. К настоящему времени установлены бактериостатический и бактерицидный эффекты околоплодных в отношении кишечной палочки, стафилококков, стрептококков, листерий, синегнойной палочки, клебсиелл, хламидий и микоплазм [3]. Возможно, бактерицидным свойством околоплодных вод объясняется уменьшение присутствия нормальной флоры влагалища – лактобацилл в группе исследования (36,3%) в сравнении с контрольной группой (77,5%).

Таким образом, в вагинальном отделяемом при родовом излитии околоплодных вод в 22-34 недели гестации обнаруживается достаточно скудная микрофлора, как правило, кокковая, при незначительном количестве лактобацилл.

Для выявления и идентификации присутствия инфекционных агентов во влагалище у пациенток, беременность которых осложнилась PROM, был проведен культуральный метод исследования.

Анализ данных бактериологического исследования показал высокую частоту контаминацию влагалищного содержимого беременных обеих групп транзиторными микроорганизмами. (табл. 2). Нормальная микрофлора, характеризующаяся преобладанием лактобацилл, определена в 35% посевах группы сравнения и в 11% – основной группе. В 4 исследованиях группы сравнения микрофлора не выявлена. Проведенное нами

исследование показало, что у 55% беременных группы сравнения и у 74% пациенток основной группы выявлены возбудители бактериальной природы, дрожжеподобные грибы. Необходимо отметить, что для обследованного контингента беременных женщин характерна смешанная контаминация различных возбудителей с выделением 3-4 ассоциантов. При сравнении данных бактериологического исследования обеих групп определено достоверное увеличение выделения у пациенток, беременность которых осложнилась PROM, *Bacteroides* spp. (на 60%); *Escherichia coli*. (на 39%); *Enterococcus* spp. (на 30%); *Staphylococcus* spp. (на 25%). *Streptococcus* spp. гем., который по данным многих исследователей основным повреждающим агентом околоплодных мембран, выделен на 9% чаще в основной группе и уступил лидирующие позиции *Bacteroides* spp.

В настоящее время одним из высокоэффективных методов оценки состояния микробиоценоза влагалища является количественный ПЦР-тест «Фемофлор», который позволяет при помощи полимеразной цепной реакции в режиме реального времени определить объем микробных частиц в исследуемой среде.

В результате проведенного исследования выявлено, что микробиоценоз влагалища как в основной группе, так и в контрольной достаточно вариабельный и представлен сообществом нескольких видов микроорганизмов. (табл. 3). У большинства обследуемых выделялись как факультативные, так и облигатные анаэробы. Нормобиоценоз с преобладанием лактобацилл определен у 33,3% здоровых беременных и у 15,3% пациенток основной группы.

У подавляющего большинства как здоровых беременных, так и пациенток, беременность которых осложнилась PROM, были широко представлены в значительном количестве факультативные и облигатные анаэробы. Однако процент выявляемости в группе исследования был достоверно выше. В основной группе преобладали факультативные анаэробы семейства *Enterobacteriaceae* и *Staphylococcus* spp. (50% и 37,5% соответственно). На 19,7% в группе исследования выделено облигатных анаэробных бактерий *Mobiluncus* spp./ *Corynebacterium* spp. Следует отметить тот факт, что в группе сравнения имели место более выраженные дисбиотические процессы во влагалище, характеризующиеся более частым обнаружением *Ureaplasma urealyticum* (37,5%), *Candida albicans* (12,5%). *Eubacterium* spp. (40%). Вероятно, данный факт связан с бактерицидными свойствами околоплодных вод.

Таблица 2

Результаты бактериологического исследования отделяемого влагалища у пациенток основной и группы сравнения

Название микроорганизма	Группа сравнения (физиологически протекающая беременность, срок гестации 22-34 нед.) (n=40)		Основная группа (беременность осложненная ПРОМ при сроке гестации 22-34 нед.) (n=72)		Различие показаний между группами
	абс.	Частота выявления %	абс.	Частота выявления %	
Грамположительные кокки:					
Staphylococcus spp.($>10^4 - 10^5$ КОЕ/мл)	10	25	36	50	25
Streptococcus spp.($>10^4 - 10^5$ КОЕ/мл)	5	12,5	17	23,6	11,1
Streptococcus spp.гем.($>10^4 - 10^5$ КОЕ/мл)	2	5	10	14	9
Streptococcus agalactiae (гр.В)	3	7,5	7	10	2,5
Enterococcus spp.всего	4	10	29	40	30
Грамположительные палочки:					
Lactobacillus spp. всего	14	35	8	11	24
Corynebacterium spp. всего	3	7,5	13	18	10,5
Bifidobacterium spp.	0	0	0	0	0
Грамотрицательные палочки:					
Escherichia coli всего	2	5	32	44	39
Klebsiella pneumoniae всего	0	0	2	3	3
Bacteroides spp.	8	20	58	80	60
Дрожжеподобные грибы:					
Candida albicans	7	17,5	3	4	13,5
Микрофлора не выделена	4	10	11	15	5

Диагностическое значение имеет концентрация выделенных микроорганизмов $10^4 - 10^5$ КОЕ/мл.

Таблица 3

Частота выделения микроорганизмов в отделяемом влагалища у пациенток основной и группы сравнения методом ПЦР

Показатели (ГЭ/мл $>10^6$)	Группа сравнения (физиологически протекающая беременность, срок гестации 22-34 нед.) (n=40)		Основная группа (беременность осложненная ПРОМ при сроке гестации 22-34 нед.) (n=72)		Различие показаний между группами
	абс.	Частота выявления %	абс.	Частота выявления %	
Lactobacillus spp.	12	33,3	11	15,3	18
Факультативные анаэробы					
Enterobacteriaceae	2	5	36	50	35
Streptococcus spp	4	10	9	13	3
Staphylococcus spp.	10	25	27	37,5	12,5
Облигатные анаэробы					
Gardnerella vag./ Prevotella b./ Porphyromonas spp.	7	17,5	14	19,4	1,9
Eubacterium spp.	16	40	21	29	11
Sneathia spp./ Leptotrichia spp./ Fusobacterium spp.	2	5	8	11	6
Megasphaera spp./ Veillonella spp./					
Dialister spp.	7	17,5	14	19,4	1,9
Lachnobacterium spp./ Clostridium spp.	6	15	12	16,6	1,6
Mobiluncus spp./ Corynebacterium spp.	6	15	25	34,7	19,7
Peptostreptococcus spp.	7	17,5	14	19,4	1,9
Atopobium vaginae	1	2,5	5	7	4,5
Mycoplasma hominis	1	2,5	5	7	4,5
Ureaplasma urealyticum	15	37,5	17	23,6	13,9
Candida albicans	5	12,5	2	2,7	9,8
Микрофлора «не выделена» (общая бак. масса $<10^4$)	2	5	2	2,7	2,3

Диагностически значима величина ОБМ более 10^6 ГЭ/мл.

Таким образом, в результате обследования микробиоценоза влагалища методом полимеразной цепной реакции в реальном времени установлено: что у пациенток, беременность которых осложнилась ПРОМ при сроке гестации 22-34 недели, на фоне снижения содержания лактобацилл в вагинальном отделяемом преобладали анаэробы семейства *Enterobacteriaceae* и *Staphylococcus* spp., *Mobiluncus* spp./ *Corynebacterium* spp.

Список литературы

1. Абрамченко В.В. Фармакотерапия преждевременных родов: 1 т / В.В. Абрамченко – М.: МедЭкспертПресс, Петрозаводск: Изд-во Интел-Тек, 2003 – 448 с.
2. Акопджанян Э.С. Гистологические и гистохимические исследования последа при преждевременном разрыве плодного пузыря / Э.С. Акопджанян, К.А. Карапетян // Журнал экспериментальной и клинической медицины АН Армянской ССР – 1983 – Т. XXIII, № 3 – С. 274–279; Дворянский С.А. Преждевременные роды / С.А. Дворянский, С.Н. Арасланова. – М.: Мед. книга, Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2002 – 93 с.
3. Максимович О.Н. Разрыв плодного пузыря до начала родовой деятельности (особенности течения беременности, родов, исходы для новорожденных: Автореф. дисс. ... канд. мед наук – Иркутск 2007 – 24 с.
4. Радзинский В.Е. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности / В.Е.Радзинский, А.П. Милованов – М.: Медицинское информационное агентство, 2004 – 393 с; Сорокина О.В., Шипицына Е.В., Болотских В.М., Мартикайнен З.М., Башмакова М.А., Савичева А.М., Зайнулина М.С. Оценка микробиоценоза влагалища у женщин с преждевременным излитием околоплодных вод методом полимеразной цепной реакции в реальном времени // Журнал акушерства и женских болезней – 2012 – Т. LXI, № 2 – С 57-64.