УДК 618.17:579.24-02:618.16-007.17-002.2]-093/-098 (045)

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА НИЖНИХ ОТДЕЛОВ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ВУЛЬВЫ

Л.Е. Шарапова, Е.Н. Андреева, Т.А. Гасанова, Л.А. Бухарова, Л.И. Дятлова

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ имени В.И. Разумовского Росздрава», г. Саратов, sharapovale@mail.ru

Проведен анализ результатов микробиологических исследований нижних отделов урогенитального тракта у больных хроническими дистрофическими заболеваниями вульвы (ХДЗВ). Установлено, что микробиологическим фактором риска развития ХДЗВ является наличие в урогенитальном тракте анаэробного паразитоценоза, представленного трихамонадами, мико-уреаплазмами, вирусами (HCV, CMV, HPV) и грибами в различных сочетаниях. При этом у больных СЛ и ПГ вульвы отмечается достоверное снижение титров Ig G, A, M, что свидетельствует о наличии у них вторичного иммунодефицита.

Ключевые слова: хронические дистрофические заболевания вульвы, микробиоценоз.

THE POLE OF MICROBIOCENOSIS OF LOW PORTION OF UROGENITAL SYSTEM IN CHRONIC DYSTROPHIC DISEASES OF VULVA

L.E. Sharapova, E.N. Andreeva ,T.A. Gasanova, L.A. Bukharova, L.I. Djatlova

State Educational Institution of Higher Professional Education, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky of Russian Health Service

Saratov, Russia (410012, Saratov, Bolshaja Kazachja Street, 12) sharapovale@mail.ru

The results of microbiological tests of low portion of urogenital system were studied and summed up in patients with chronic dystrophic diseases of vulva. It is stated that the presence of anaerobic parasitocyanosis in urogenital system, represented by trichomonas vaginalis, mycouroplasma, viruses (HCV, CMV, HPV) and fungi in various combinations, is a microbiological risk factor in developing of chronic dystrophic diseases of vulva. In this case firm reduction of Ig, G, A, M titers is marked in patients with sclera lichen and vulva planocellular hyperplasia. This shows the presence of secondary immunodeficiency in such patients.

Key words: chronic dystrophic diseases of vulva, microbiocenosis.

Склеротический лишай (СЛ) и плоскоклеточная гиперплазия (ПГ) вульвы относятся к хроническим дистрофическим заболеваниям вульвы (ХДЗВ). Признан многофакторный характер происхождения склеротического лишая и плоскоклеточной гиперплазии вульвы и ассоциация их с хроническим воспалением женской половой сферы. По мнению В. П. Козаченко, вирус папилломы человека (ВПЧ) считается инициирующим фактором в генезе рака шейки матки (РШМ) и рассматривается в качестве причины дистрофических и злокачественных заболеваний вульвы и влагалища [1]. Исследования Е.В. Чулковой показали, что вирус папилломы человека выявляется у пациенток с плоскоклеточной гиперплазией вульвы в возрасте от 18 до 50 лет — в 100% наблюдений, от 41 до 50 лет — в 77% клинических случаях, а от 51 до 60 лет встречается лишь у 19% женщин. У пациенток после 60 лет в соскобах с эпителия вульвы ВПЧ не определялся вообще. [4]. Данное обстоятельство еще раз подчеркивает транзиторный характер папилломовирусной инфекции [3]. В то же время K. Heim с соавторами утверждают, что серологическими исследованиями не доказано, что склеротический лишай и плоскоклеточная гиперплазия без атипии ассоциированы с вирусом папилломы человека [5]. Работами Л.И. Мальцевой и Э.Э. Гилязовой было показано, что наиболее часто у больных СЛ и ПГ выделялись дрожжеподобные грибы рода Candida [2]. В сыворотке крови кандидозный антиген в высоких титрах был выявлен у 45% женщин и у 88% пациенток при бактериологическом исследовании биопсийного материала вульвы. Таким образом, до настоящего времени окончательно не определен возбудитель, послуживший причиной и поддерживающий длительное хроническое воспаление вульвы. Характер и степень выраженности воспалительного ответа зависит не только от патогенности и вирулентности конкретного возбудителя, но и от индивидуальной иммунной реакции макроорганизма на инфекционный агент, в том числе условно-патогенный.

Цель исследования

Определение микробиологических факторов риска и специфического иммунитета у больных хроническими дистрофическими заболеваниями вульвы.

Материал и методы

Под нашим наблюдением находилось 56 женщин с хроническими дистрофическими заболеваниями вульвы: краурозом и лейкоплакией вульвы в возрасте от 45 до 72 лет. Длительность заболевания у пациенток была различна — от 1 года до 10 лет.

При первичном обращении все пациентки предъявляли жалобы на зуд и/или жжение, сухость, боли в области наружных половых органов, диспареунию. Диагностировалось поражение краурозом слизистых и кожных покровов вульвы в виде белесоватости тканей, атрофии и/или склероза, вторичной гиперемии, многочисленных трещин, расчесов, кровоизлияний. При бимануальном исследовании у всех пациенток отмечалась резкая болезненность при пальпации стенок таза, более выраженная справа. Следует отметить, что в большинстве случаев выделения из влагалища носили умеренный или незначительный характер. Всем пациенткам проведено

комплексное обследование, включающее изучение анамнеза, общий и гинекологический осмотр, расширенную вульвоскопию, в том числе у больных ХДЗВ выполнена биопсия вульвы для гистологического подтверждения данного заболевания.

Группу контроля (вторую группу) составили 43 женщины, сопоставимые по возрасту, социальному статусу, акушерско-гинекологическому анамнезу. У пациенток отсутствовали жалобы со стороны урогенитального тракта и не выявлена патология гениталий.

Материалом для микробиологического исследования послужили соскобы из цервикального канала, уретры, влагалища, утренняя моча.

Идентификация возбудителей генитальных инфекций осуществлялась с использованием нескольких диагностических подходов. Индикацию антигенов C. trachomatis проводили методом прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) с использованием тест-систем «ХлаМоно-Скрин-2» («Ниармедик»). Индикацию специфических антител классов IgM и IgG осуществляли методом иммуноферментного анализа на тест-системах «Medac» (Германия), ЗАО «Вектор Бест в соответствии с инструкциями.

Микоплазмы идентифицировали с использованием тест-систем Mycoplasma Duo 62740 производства «Sanofi Diagnostics Pasteur» (Франция), тест-систем для культивирования уреаплазм производства НИИ дерматологии и венерологии АМН Украины и на селективных питательных средах «Уреаплазма-96», «Микоплазма-96» производства НИИ ЭМ им. Пастера (Санкт-Петербург).

Идентификацию CMVirus проводили непрямой иммунофлюоресценцией с использованием следующих тест-систем: Mono Fluo Kit CMB — Sanofi Diagnostics Pasteur, Франция; Dako MAT Dako CMV AAC 10 и MAT Dako CMV CCH2 смешивали в соотношении 1:1 с тем, чтобы повысить чувствительность метода.

Для идентификации вируса герпеса Herpes viruses I, II типов применяли метод иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител HSV1 FITC, 30490; HSV2 FITC 30491, для ВПЧ — метод ПЦР в реальном времени. Определение антител классов IgG и IgM к вирусу герпеса I, II типов, Cytomegalovirus и C. trachomatis проводили методом иммуноферментного анализа на тест-системах «Векто-ВПГ-IgG-стрип», «Векто-ВПГ-IgM-стрип»,«Векто-ЦМВ-IgG-стрип», «Векто-ЦМВ -IgM-стрип», «Хлами Бест C. trachomatis-IgG-стрип», «Хлами Бест IgM-стрип» ЗАО «Вектор Бест».

Определение IgA, IgG к U. urealiticum, M. hominis, IgG к Candida albicans, IgA, HSP60 к C. trachomatis проводили методом ИФА на тест-системах: «УреаплазмаБест-IgA», «МикоплазмаБест-IgA», «ХламиБест C. trachomatis-IgA-стрип», «ХламиБест HSP60-IgG», «УреаплазмаБест-IgG-«МикоплазмаБест-IgG», « Кандида-IgG».

Выделение и идентификацию бактериальной флоры из мочевыделительной и репродуктивной систем проводили согласно приказу МЗ СССР №535 от 22.02.1985г «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических

учреждений» и «Основным методам лабораторных исследований в клинической лаборатории», ВОЗ, Женева, 1994 г.

Лабораторную диагностику Trichomonas vaginalis осуществляли в соответствии с приказом МЗ РФ №286 от 7.12.1993г. с одновременным исследованием нативного препарата, бактериоскопией по Романовскому-Гимза и культуральным выделением Trichomonas vaginalis на питательных средах Джонсона-Трассела на основе печеночного бульона по стандартной прописи и тест-системах Vagicult, «Orion», Финляндия. Определение специфических антител класса IgG проводили методом ИФА на тест-системах «Трихомоно-Бест-IgG-стрип» ЗАО «Вектор-Бест». Статистическая обработка полученных данных производилась по программе «MED-STAT», предназначенной для обработки результатов медицинских и полученных результатов.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что структура паразитоценоза урогенитального тракта у женщин с ХДЗВ характеризовалась большей интенсивностью колонизации возбудителей ИППП и условно-патогенной флорой, чем у женщин группы контроля. Первым этапом исследований было изучение частоты выявления *Trichomonas vaginalis при микроскопическом и культуральном исследованиях* в соскобах из репродуктивного тракта и в центрифугате утренней средней порции мочи у сравниваемых групп. Частоту выделенной трихомонадной инфекции сопоставляли с уровнем циркулирующих IgG, что характеризовало состояние специфического гуморального иммунитета. Результаты исследований приведены в табл. 1.

Таблица 1

Частота выявления Trichomonas vaginalis культуральным методом и выявления противотрихомонадных IgG у женщин со СЛ и ПГ вульвы и в группе контроля (n,%)

Клинические группы	Репродуктивный тракт	Центрифугат мочи	Выявленные IgG к *Trichomonas vaginalis*
Группа контроля (n 43) (здоровые женщины)	4 (9,3%)	-	10 (23,2%)
Больные со СЛ и ПГ вульвы (n 56)	34 (60,7%)	6 (10,7%)	7 (12,7%)

Из представленных данных следует, что только у 4 (9,3%) женщин группы контроля из репродуктивного тракта были изолированы *Trichomonas vaginalis* при культуральном исследовании, при этом они отсутствовали в центрифугате мочи. В то же время у больных ХДЗВ частота выявления трихомонад культуральным методом на фоне воспалительного процесса гениталий была значительно выше (60,7%), что в 6,5 раза превышало аналогичные показатели группы контроля. При этом у каждой десятой пациентки с СЛ и ПГ (10,7%) трихомонады были изолированы также при культуральном исследовании центрифугата мочи. *Таким образом, у каждой деся-*

той больной СЛ и ПГ трихомониаз являлся активной инфекцией с полным отсутствием бифидо- и лактобактерий во влагалищном содержимом. При исследовании специфических IgG к *Trichomonas vaginalis* было выявлено, что титр IgG был в 1,8 раза выше в группе здоровых женщин.

Высокая частота изоляции *Trichomonas vaginalis и*з репродуктивного тракта (60,7%) и мочи (10,7%) и низкая частота регистрации противотрихомонадных антител у женщин с СЛ и ПГ вульвы (12,7%) свидетельствуют об отсутствии адекватного иммунного ответа на протозойную инвазию.

Следующим этапом исследования явилось изучение частоты выявления *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* в диагностически значимых концентрациях у сравнимаемых групп. Данные по исследованиям приведены в табл. №2.

Проведенные исследования установили, что микоплазмы и уреаплазмы в концентрациях больше *10*4 кое/мл* достоверно и значительно чаще изолировались из урогенитального тракта у женщин с ХДЗВ. В то же время при уреаплазмозе частота выявления специфических антител была выше IgA в 2,4 раза и IgG практически в 4 раза в группе здоровых женщин (46,5; 12,5% соответственно). В то же время при микоплазмозе показатели секреторного IgA и IgG практически не отличались у пациенток обеих групп.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии адекватного иммунного ответа и на уреа-микоплазменную инфекцию.

Таблица 2

Частота выявления Mycoplasma hominis и Ureaplasma urealyticum в диагностических концентрациях и специфических антител-IgA и IgG у женщин сравниваемых групп (n,%)

Клинические группы	*Mycoplasma hominis> 10*4 кое/мл*	*Ureaplasma urealyticum> 10*4 кое/мл*	IgA *Mycoplasma hominis*	IgA *Ureaplasma urealyticum*	IgG *Mycoplasma hominis*	IgG *Ureaplasma urealyticum*
Группа контроля (43)	8 (18,6%)	6 (13,9%)	9 (21%)	11 (25,6%)	8 (18,6%)	20 (46,5%)
Больные с ХДЗВ (56)	27 (48,1%)	20 (35,7%)	11 (19,6%)	6 (10,7%)	10 (17,9%)	7 (12,5%)

Воспалительная реакция во влагалище с полным отсутствием бифидо- и лактобактерий во влагалищном содержимом, с преобладанием анаэробных грамотрицательных и грамположительных бактерий выявлена у 69,6% больных ХДЗВ, причем более чем у половины больных хронический воспалительный процесс поддерживала вирусная инфекция, представленная ВПГ 1-2 типа и ЦМВ. Такие вирусные агенты, как ВПГ, ЦМВ, однажды попав в организм, по мнению большинства исследователей, персистируют пожизненно и, по сути, не могут быть уничтожены при помощи медикаментов или иммунной системой организма.

Антигены к HSV I-II у пациенток основной группы выделялись в 6,7 раза чаще по сравнению со здоровыми женщинами (62,5%; 9,3% соответственно). В тоже время, показатели гуморального иммунитета, представленного IgG, (92,8%; 95% соответственно) были на одном уровне, а специфических АТ — IgM отмечалось в 1,5 раза больше (7,1 и 4,6%), что подтверждало клинические данные о рецедивировании генитальной герпетической инфекции.

Данные по результатам исследованиям приведены в табл. №3.

Таблица 3

Частота выявления *антигенов* к HSV *I-II, CMV* и специфических антител-IgM и IgG у женщин со СЛ и ПГ вульвы и в группе контроля (n,%)

Клинические группы	Антигены к HSV *I-II*	Антигены к CMV	IgG HSV *I-II*	IgG CMV	IgM HSV *I-II*	IgM CMV
Группа контроля (43)	4 (9,3)%	13(30,2)%	40(95%)	36(83,7%)	2(4,6%)	1(2,3%)
Больные со СЛ и ПГ вульвы (56)	35 (62,5%)	26(46,4%)	52(92,8)%	50(89,2%)	4(7,1%)	2(3,6%)

Антигены к CMV у пациенток основной группы выделялись также в 1,5 раза чаще по сравнению со здоровыми женщинами (46,4%; 30,2% соответственно). А показатели гуморального иммунитета, представленного IgG, (89,2%; 83,7% соответственно) и IgM (3,6 и 2,3%), практически были на одном уровне в обеих группах.

ВПЧ методом ПЦР в реальном времени выявлен у 35,7% больных ХДЗВ и лишь у 10,5% пациенток группы контроля. При этом у больных ХДЗВ регистрировалась разнообразная микрофлора с преобладанием анаэробного бактериального компонента и вагинального кандидоза. Уровагинальный кандидоз диагностировали по наличию спор и нитей псевдомицелия. Он был выявлен у 47 (71%) пациенток в моче и в соскобе у каждой пятой (8,9%) женщины со СЛ и ПГ, в то время как в группе контроля встречался реже, лишь в 30% клинических наблюдений.

Частота выявления антигенов Chlamydia trachomatis с помощью метода прямой иммунофлюоресценции у женщин с СЛ и ПГ вульвы и в группе здоровых женщин составила 32% и 28%, при этом в группе здоровых женщин показатели местной защитной реакции слизистой IgA практически в 3 раза выше по сравнению с группой больных женщин (18,6%; 5,4% соответственно).

Заключение

Результаты проведенных нами исследований у больных со СЛ и ПГ вульвы свидетельствуют о наличии в урогенитальном тракте ассоциации анаэробных протозойно-бактериальных вирусных инфекционных агентов, включающих патогенную, условнопатогенную и непатогенную микрофлору, взаимодействующую между собой и вызывающую воспалительный процесс в тканях макроорганизма.

При этом паразитоценоз представлен пятью — девятью возбудителями. В кон-

трольной группе паразитоценозы были представлены одним — тремя микроорганизмами.

Таким образом, наиболее распространенными ассоциациями в паразитоценозах урогенитального тракта у больных ХДЗВ являются анаэробные трихомонадо- -уреа-микоплазменно-вирусные (HSV I-II, CMV, HPV) микробиоценозы в сочетании с различным анаэробным и грибковыми компонентам. Установлена высокая активность вирусного компонента в сложном паразитоценозе урогенитального тракта у женщин с СЛ и ПГ вульвы, что согласуется с данными исследователей о значительной роли вирусной инфекции в этиологии крауроза и лейкоплакии вульвы [1]. Уринарное экскретирование микроорганизмов в отличие от цервикальной экскреции является самостоятельной характеристикой, более точно отражающей активность определенных вирусов и бактерий, и служит дополнительным лабораторным критерием в сложных паразитоценозах урогенитального тракта у обследованных женщин. Полученные данные свидетельствуют о том, что при лабораторной диагностике многокомпонентной паразитарной системы необходимо выявлять этиологически значимую флору, которая будет определять направление медикаментозной терапии. Этиологически значимую флору в многокомпонентных паразитоценозах урогенитального тракта у женщин с ХДЗВ необходимо определять с помощью лабораторных тестов 2 уровней. К тестам первого уровня относятся скрининговые тесты: просмотр мазков по Граму и Романовскому-Гимза; индикация антигенов возбудителей ИППП методом прямой и непрямой ИФ, ИФА; ПЦР, серологическое исследование методом ИФА и ИФ. Тестами второго уровня являются либо классические культуральные методы, либо быстрые культуральные методы с типированием культур возбудителя с помощью ПЦР, моно- или поликлональных антител. Наличие паразитоценоза опосредованно влияет на состояние гуморального IgG и локального иммунитета слизистой влагалища и вульвы, обусловленного выработкой секреторного IgA, защитная роль которого состоит во взаимодействии с микробами, токсинами и аллергенами слизистых оболочек. Пейеровы бляшки тонкого кишечника являются одним из самых важных источников плазмоцитов, синтезирующих IgA практически для всех слизистых оболочек. Снижение уровня специфических АТ IgA позволяет судить о дисбактериозе тонкого кишечника. Снижение секреторного IgA является одним из звеньев срыва иммунологических механизмов, активизации персистентных инфекций, что, в свою очередь, способствуют хронизации воспалительных процессов. Таким образом, микробиологическими факторами риска развития хронических дистрофических заболеваний вульвы является наличие хронического воспалительного процесса в урогенитальном тракте, обусловленного анаэробным паразитоценозом, представленным T. vaginalis, Ur Urealiticum, M. *hominis*, вирусами (HSV *I-II типа, CMV,* HPV*) и грибами в различных сочетаниях.*

Список литературы

1. Козаченко В. П. Рак шейки матки // Современная онкология. — 2001. — Т. 2, №2. — С. 2–4.

2. Мальцева Л.И., Гилязова Э.Э. Особенности микрофлоры половых путей у женщин, страдающих дистрофическими заболеваниями вульвы и влагалища: сб. ст. Российской научно-практической конференции «Патология шейки матки и генитальные инфекции — от теории к практике» М., 2007 — С.51–52.

3. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция и патология шейки матки. М: ГЭОТАР-Медиа, 2005. — 143 с.

4. Чулкова О.В., Новикова Е.Г., Соколов В.В., Чулкова Е.А. Диагностика и лечение фоновых и предраковых заболеваний вульвы // Практическая онкология 2006. —Т. 7, №4. — С.197–204.

5. Harrington CI, Gelsthorpe K. The association between lichen sclerosus et atrophicus and HLA-B40 // Br. J. Dermatol. — 1981. № 104. — P. 561–562.