

УДК 618.3-06:616.62-008.87-085

Выявление *Atopobium vaginae* у женщин детородного возраста с синдромом бактериального вагиноза

Р.С. Геворкян¹, Н.В. Павлович², А.С. Водопьянов²¹Городская поликлиника № 42, Ростов-на-Дону, Россия²Научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

Бактериальный вагиноз (БВ) – патологический синдром, связанный с замещением резидентной микрофлоры влагалища анаэробной полимикробной ассоциацией. Недавно описан новый микроорганизм – *Atopobium vaginae*, который также может участвовать в патогенезе БВ. Некоторые штаммы *A. vaginae* устойчивы к метронидазолу, что затрудняет лечение БВ и приводит к частым рецидивам заболевания. Для выбора наиболее адекватной терапии необходимо проведение грамотной диагностики с выявлением всех ассоциантов, участвующих в формировании БВ. В настоящей работе представлены данные по изучению частоты выявления *A. vaginae* у женщин детородного возраста, обра-

тившихся за гинекологической помощью в поликлинику № 42 Ростова-на-Дону. Влагалищные выделения всех пациенток были предварительно исследованы с помощью микробиологического метода и ПЦР-анализа на наличие резидентной и аэробно-анаэробной микрофлоры. Показано, что *A. vaginae* достаточно часто включается в ассоциацию с другими анаэробными бактериями у пациенток с декомпенсированным БВ (47%). В то же время при наличии резидентной микрофлоры, представленной *Lactobacillus* spp., в условиях нормоценоза или субкомпенсированного БВ, этот микроорганизм не выявлен.

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, анаэробы, *Atopobium vaginae*.

Detection of *Atopobium vaginae* in Women of Childbearing Age with Bacterial Vaginosis

R.S. Gevorkyan¹, N.V. Pavlovitch², A.S. Vodopyanov²¹ City Outpatient Clinic #42, Rostov-on-Don, Russia² Rostov-on-Don Research Anti-plague Institute, Rostov-on-Don, Russia

Bacterial vaginosis (BV) is a syndrome characterized by replacement of a normal (resident) vaginal flora with an association of anaerobic microorganisms. The most recently described novel microorganism, *Atopobium vaginae*, may be involved in pathogenesis of BV. Some strains of *A. vaginae* are metronidazole-resistant and, therefore, make it difficult to treat BV and lead to high recurrence rates. In order to ensure appropriate therapy, it needs to detect all microorganisms involving in BV

development. This paper presents data on the incidence rate of *A. vaginae* in women of childbearing age who presented with gynecological symptoms to the Rostov-on-Don outpatient clinic #42. Vaginal discharges obtained from all women were tested using both culture and PCR analysis for resident and anaerobic microflora. Among female patients with decompensated BV, *A. vaginae* was detected frequently (47%) as a part of polymicrobial association. However, this microorganism was not found in women who had resident flora (*Lactobacillus* spp.) under circumstances of vaginal normocenosis or sub-compensated BV.

Keywords: bacterial vaginosis, anaerobes, *Atopobium vaginae*.

Контактный адрес:

Наталья Владимировна Павлович

Научно-исследовательский противочумный институт

344007 г. Ростов-на-Дону, ул. М.Горького 117

Тел.: (863) 240-22-66

Эл. почта: plague@ic.ru

Введение

Бактериальный вагиноз (БВ) занимает ведущее место в структуре гинекологической патологии как у женщин репродуктивного возраста, так и в период менопаузы [1–3]. В 1984 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) признала БВ одной из самых распространенных вагинальных инфекций и выделила его в самостоятельную нозологию. Подобный синдром, связанный с замещением резидентной микрофлоры влагалища анаэробной полимикробной ассоциацией, повышает чувствительность к инфекциям, передающимся половым путем, создает предпосылки для инфицирования мочеполовой системы и затрудняет ведение беременности и родов [3, 4]. При этом сложность бактериологической диагностики БВ определяется, в первую очередь, отсутствием какого-либо одного специфического этиологического агента и вовлечением в процесс условно-патогенных анаэробных бактерий. В то же время данные микроорганизмы в недоминирующих количествах могут присутствовать в микроэкосистеме влагалища здоровых женщин, например *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* spp., *Mobiluncus* и др., достаточно часто выделяются от женщин, не имеющих жалоб или клинической картины воспалительного процесса [5–7]. Кроме того, существуют определенные трудности при культивировании анаэробов в лабораторных условиях и оценке их антибиотикочувствительности (длительность выращивания, использование специальных питательных сред, изоляция чистых культур из смешанных популяций). Поэтому достаточно часто при наличии характерных симптомов БВ лечение производными нитроимидазола, в частности метронидазолом, назначают только на основании данных микроскопического исследования [3, 8]. Однако подобный подход не всегда себя оправдывает, что проявляется в неэффективности лечения или в рецидивах заболевания [9]. При известной чувствительности анаэробных бактерий к метронидазолу причина таких «сбоев» в лечении БВ до последнего времени оставалась мало понятной.

Недавно описан новый микроорганизм – *Atopobium vaginae*, который включается в патогенез бактериального вагиноза, и, по мнению некоторых авторов, является более специфическим маркером БВ, чем *G. vaginalis* [9, 10]. Внимание исследователей привлек тот факт, что при наличии этого микроорганизма в ассоциации с другими анаэробными микробами, заболевание значительно хуже поддается лечению метронидазолом. Так, после курса антибактериальной терапии рецидивы заболевания, вызванного ассоциацией *G. vaginalis* и

A. vaginae, наблюдались у 83% пациенток, тогда как при моноинфекции (*G. vaginalis*) – только у 38% [9]. Позже было доказано, что большинство исследованных штаммов *A. vaginae* характеризуется высоким уровнем резистентности к метронидазолу [8]. В этой связи становится очевидным, что для выбора наиболее адекватной терапии необходимо проведение грамотной диагностики с выявлением всех возможных ассоциантов, участвующих в формировании синдрома БВ. В то же время бактериоскопический и бактериологический методы оказались малопригодными для детекции *A. vaginae* из-за выраженного полиморфизма бактерий (от мелких грампозитивных кокков до палочек) и их прихотливости при выращивании на искусственных питательных средах [10, 11]. Поэтому, в настоящее время обнаружение *A. vaginae* базируется на молекулярно-биологических методах исследования, в частности ПЦР-анализе. Вместе с тем, малочисленность теоретических и практических знаний по выявлению этого микроорганизма у женщин с различной гинекологической патологией приводит к тому, что многие вопросы остаются не изученными. Например, способность *A. vaginae* к ассоциации с резидентной микрофлорой – *Lactobacillus* spp. или аэробными бактериями, вызывающими неспецифический вагинит, и его влияние на течение и лечение инфекционного процесса.

В этой связи, целью настоящей работы явилось изучение частоты выявления *A. vaginae* у женщин детородного возраста с различной гинекологической патологией, обратившихся за помощью в женскую консультацию поликлиники № 42 Ростова-на-Дону.

Материал и методы исследования

Исследована микрофлора отделяемого влагалища 61 женщины в возрасте от 16 до 48 лет, обратившихся в гинекологическое отделение. Микробиологическое исследование включало микроскопию мазков материала заднего свода влагалища с окраской по Граму, а также изучение количественного и качественного состава вагинальной микрофлоры с помощью бактериологического метода.

Выделение и идентификацию аэробных и анаэробных бактерий проводили на соответствующих питательных средах согласно рекомендациям [12, 13]. Наличие в исследуемом материале *Lactobacillus* spp., *G. vaginalis*, *Bacteroides* spp. и *Mobiluncus* spp. в каждом случае подтверждалось методом ПЦР с использованием тест-систем производства НПФ «Литех» (Москва). Заключение о состоянии микробиоценоза давалось по совокупности полученных результатов в соответствии с критериями [1, 14]:

– нормоценоз (отсутствие лейкоцитоза, лактобактерии в большом количестве);

– субкомпенсированный бактериальный вагиноз (уменьшение количества лактобактерий, появление условно-патогенной грам-вариабельной анаэробной микрофлоры без формирования ключевых клеток);

– декомпенсированный бактериальный вагиноз (отсутствие лактобактерий, наличие гарднерелл или других анаэробных бактерий в большом количестве, формирование ключевых клеток);

– неспецифический вагинит (наличие в высоком титре условно-патогенной аэробной микрофлоры, например *Streptococcus pyogenes*, при резко уменьшенном количестве лактобактерий или их отсутствии);

– специфический вагинит (выраженный лейкоцитоз, наличие гонококков, трихомонад или других облигатных патогенов).

Выявление *A. vaginae* проводили с помощью праймеров, предложенных M.J. Ferris и соавт. [3]; термостабильной ДНК-полимеразы (Taq-полимераза, «ДиаЛат», Москва) – в термоциклере МС-2 «Терцик» (АО «ДНК-Технология, Москва).

Результаты и обсуждение

Из 61 женщины, обратившихся в гинекологическое отделение поликлиники № 42 Ростова-на-Дону, 42 имели жалобы на симптоматику, характерную для клинической картины БВ или воспалительного процесса (жжение, зуд, выделения различного характера с неприятным запахом, покраснение слизистой). У 12 из них обращения к врачу с подобными жалобами были повторными, а в анамнезе зарегистрированы БВ (9 человек) или кандидозный вульвовагинит (3 человека). Все эти пациенты прошли курс антибактериальной или про-

тивогрибковой терапии, эффективность которой была подтверждена контрольными лабораторными анализами. Повторное обращение было связано с вновь появившимся чувством дискомфорта или выделений из влагалища.

Для 30 пациенток, имеющих жалобы, обращения были первичными.

У 19 женщин посещение гинеколога было обусловлено либо беременностью, либо профилактическим осмотром.

В результате проведенного исследования (бактериоскопия, бактериологическое исследование, ПЦР-анализ) было установлено, что всех обследуемых можно разделить на 5 групп в соответствии с вышеперечисленными критериями [1, 14]:

1-я группа (10 женщин) – нормоценоз;

2-я группа (11 женщин) – субкомпенсированный БВ;

3-я группа (32 женщины) – декомпенсированный БВ;

4-я группа (6 женщин) – неспецифический вагинит, включая 4 пациентки с кандидозным вульвовагинитом;

5-я группа (2 женщины) – специфический вагинит (*Trichomonas vaginalis*).

Качественный и количественный состав микрофлоры обследуемых женщин представлен в таблице.

Обращает на себя внимание тот факт, что из 19 обследованных, не предъявлявших каких-либо жалоб, только у 10 был зарегистрирован нормоценоз влагалища. У остальных выявлен кандидозный вульвовагинит (4 беременные женщины) и лабораторные признаки бактериального вагиноза в субкомпенсированной или декомпенсированной формах (5 пациенток).

Состав микрофлоры влагалища обследованных женщин

Микроорганизмы	Частота обнаружения микроорганизмов, %				
	1-я группа (n=10)	2-я группа (n=11)	3-я группа (n=32)	4-я группа (n=6)	5-я группа (n=2)
<i>Lactobacillus</i> spp.	100	96	0	16	0
<i>Bifidobacterium</i> spp.	30	18	0	0	0
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0	80	100	0	100
<i>Mobiluncus</i> spp.	0	0	15	0	0
<i>Fusobacterium</i> spp.	0	0	22	0	0
<i>Bacteroides</i> spp.	0	25	28	0	0
Enterobacteriaceae	0	0	0	100	0
<i>Enterococcus</i> spp.	0	0	0	80	0
<i>Candida</i> spp.	0	5	9	16	0
<i>Trichomonas vaginalis</i>	0	0	0	0	100
<i>Atopobium vaginae</i> *	0	0	47	0	0

Примечание: * – представлены данные бактериологического исследования и результаты ПЦР-анализа.

У 9 женщин с повторным обращением (БВ в анамнезе) установлен диагноз – декомпенсированный БВ (3-я группа), что может свидетельствовать о рецидивирующем характере заболевания.

Как видно из данных таблицы, наименьшим видовым разнообразием характеризуется вагинальная микрофлора женщин 1-й группы, включающая представителей резидентной флоры – *Lactobacillus* spp. и реже *Lactobacillus* spp. в ассоциации с *Bifidobacterium* spp. В противоположность этому у пациенток с декомпенсированной формой бактериального вагиноза при отсутствии нормофлоры было зарегистрировано наличие полимикробной ассоциации – *G. vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *Fusobacterium* spp. и *Bacteroides* spp. При этом монокультура *G. vaginalis* была изолирована лишь у 22% больных.

Анализ вагинального содержимого у всех обследованных женщин методом ПЦР показал наличие ДНК *A. vaginae* только у пациенток 3-й группы (декомпенсированная форма), причем с достаточно высокой степенью выявления (47%). Интересно отметить, что наибольшее число положительных находок (до 70%) приходилось на БВ, обусловленный смешанной анаэробной микрофлорой (*G. vaginalis* как доминирующая культура в ассоциации с *Mobiluncus* spp., *Fusobacterium* spp. или *Bacteroides* spp.). Полученные результаты согласуются с данными других авторов о существовании взаимосвязи между выявлением *G. vaginalis* и *A. vaginae* [11]. Однако при субкомпенсированном БВ (*G. vaginalis* на фоне сохранения *Lactobacillus* spp.) обнаружить *A. vaginae* нам не удалось, что позволяет предположить антагонистическое действие *Lactobacillus* spp. в отношении *A. vaginae*. Подтверждением этому может служить и тот факт, что данный микроорганизм не выявлен ни в одном случае у женщин с нормоценозом влагалища.

Интересно отметить высокую частоту обнаружения *A. vaginae* у женщин с рецидивирующим БВ

(7 из 9 обследованных – 78%), что может свидетельствовать в пользу осложненного течения БВ, вызываемого ассоциацией анаэробов с *A. vaginae*. Как уже отмечалось выше, в прошлом эти пациентки прошли курс эффективной антибактериальной терапии (метронидазол и др. нитроимидазолы) с клиническим выздоровлением и восстановлением нормоценоза влагалища. Тем не менее, позже (через 3–6 мес.) у них развился рецидив БВ в декомпенсированной форме. К сожалению, у нас отсутствуют данные по выявлению *A. vaginae* при первичном обращении пациенток и эффективности использованных препаратов в отношении этого вида, что является предметом дальнейших исследований.

У 6 женщин (4-я группа) был зарегистрирован неспецифический вагинит, вызванный аэробными микроорганизмами, или кандидозный вульвовагинит. Во всех случаях даже при наличии аэробных условно-патогенных бактерий или дрожжей установлено сохранение резидентной микрофлоры при отсутствии *A. vaginae*.

5-я группа включала всего 2 женщин со специфическим вагинитом, обусловленным *Trichomonas vaginalis*, что не позволяет сделать какого-либо заключения. Тем не менее, у этих пациенток трихомонадный кольпит развивался при выраженном дисбиозе на фоне полного замещения нормофлоры *G. vaginalis* и *Bacteroides* spp. В то же время исследование проб на присутствие ДНК *A. vaginae* дало отрицательные результаты.

Таким образом, при бактериальном вагинозе, помимо известных анаэробных видов бактерий, достаточно часто может присутствовать относительно новый ассоциант – *A. vaginae*. Вопрос о его этиологической значимости в формировании БВ на сегодняшний день остается открытым и нуждается в накоплении более обширных данных.

Литература

1. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз (клиника, диагностика, лечение): Автореф. дис. д-ра. мед. наук. - Санкт-Петербург, 1995. - 40с.
2. Саркисян О.Г., Васильева Л.И., Микашинович З.И. и соавт. Микрофлора влагалища и ее жирнокислотный состав при миоме матки, осложненной кровотечением. Труды VI конф. «Обмен веществ при адаптации и повреждении», Ростов н/Д, 2007. - с.187-90.
3. Ferris M.J., Norori J., Zozaya-Hinchliffe, Martin D.H. Cultivation-independent analysis of changes in bacterial vaginosis flora following metronidazole treatment. J Clin Microbiol 2007; 45:1016-8.
4. Verstraelen H., Verhelst R., Claeys G. et al. Culture-independent analysis of vaginal microflora: the unrecognized association of *Atopobium vaginae* with bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol 2004; 191:1130-2.
5. Зубков М.Р. Современная таксономия и номенклатура облигатно-анаэробных бактерий, выделенных от человека. Клинич микробиол антимикроб химиотер 2005; 7:312-22.
6. Witkin S. Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation. Best Pract Res Clin Obstet Gynecol 2007; 21:347-54.
7. Цвелев Ю.В., Кочеровец В.И., Кира Е.Ф. и соавт. Анаэробная инфекция в акушерско-гинекологической практике. Санкт-Петербург, 1995. - 320 с.

8. Backer E., Verhelst R., Verstraelen H., et al. Antibiotic susceptibility of *Atopobium vaginae*. J BMC Infect Dis 2006; 5:1-6.
9. Bradshaw C.S., Tabrizi S.N., Fairley C.K., et al. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. J Infect Dis 2006; 194:828-36.
10. Jovita M.R., Collins M.D., Sjoden B., et al. Characterization of a novel *Atopobium* isolate from the human vagina: description of *Atopobium vaginae* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1999; 49:1573-6.
11. Schwiertz A., Taras D., Rusch K., et al. Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints? Ann Clin Microbiol Antimicrob 2006; 5:1-7.
12. Приказ № 535 МЗ СССР «Об унификации микробиологических, бактериологических методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях ЛПУ». – М, 1985. – 125 с.
13. Определитель бактерий Берджи. Под редакцией Д. Хоулга, Н.Кинга, П.Снита, Д.Стейли, С.Уильямса. М. «Мир», 1997.
14. Кудрявцева Л.В., Ильина Е.Н., Говорун В.М. и др. Бактериальный вагиноз. М., 2002.