

## **НАРУШЕНИЯ БИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА ПРИ ГЕСТАЦИОННОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ И ЕГО ВОССТАНОВЛЕНИЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ КУЛЬТУРЫ АУТОЛАКТОБАЦИЛЛ**

**Мельников В. А., Целкович Л. С., Высоцких Т. С., Балтер Р. Б.**

*ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, e-mail: samaraobsgyn2@yandex.ru*

В результате проведения антибактериальной терапии у беременных с гестационным пиелонефритом возникают нарушения микробиоценоза влагалища. Поиск методов коррекции этих нарушений во время лечения гестационного пиелонефрита и эффективного восстановления влагалищной микрофлоры после него актуален в настоящее время. Результаты микробиологических исследований свидетельствуют о выраженных нарушениях в микробиоценозе влагалища у беременных с гестационным пиелонефритом, характеризующихся изменениями в составе облигатной влагалищной микрофлоры, уменьшением количества лактобактерий, бифидобактерий и преобладанием условно-патогенной группы микроорганизмов. Авторами разработана и предложена модификация способа селективного выделения и культивирования лактобацилл с использованием маточной среды из растительного гликогена, в которую лактобациллы заселяются после выращивания их на селективной среде. Собственные штаммы вагинальных лактобактерий обеспечивают эффективное восстановление микрофлоры влагалища, а отсутствие в микрофлоре *Candida spp.* указывает на повышение колонизационной резистентности влагалища. Апробирование метода показало его высокую эффективность. При контрольном обследовании перед родами стойкий клинический эффект отмечен у 92,5 % пациенток, для восстановления биоценоза влагалища которых применялась культура собственных штаммов лактобацилл.

Ключевые слова: гестационный пиелонефрит, нарушения биоценоза влагалища, маточная среда, аутоштаммы лактобактерий, восстановление микрофлоры влагалища, нормоценоз, повышение колонизационной резистентности.

## **VAGINAL BIOCECENOSIS DISTURBANCE IN GESTATIONAL PYELONEPHRITIS AND ITS RESTORATION USING AUTOLACTOBACILLI CULTURES**

**Melnikov V. A., Tselkovich L. S., Vysotskyh T. S., Balter R. B.**

*Samara State Medical University, Samara, e-mail: samaraobsgyn2@yandex.ru*

As a result of the antibiotic therapy in pregnant women with gestational pyelonephritis disturbances of vaginal microbiocenosis. The search for methods of correction of these disorders during treatment gestational pyelonephritis and efficient recovery of vaginal flora after topical at the moment. The results of microbiological studies indicate severe violations of vaginal microbiocenosis of pregnant women with gestational pyelonephritis, characterized by changes in the composition of obligate vaginal microflora, a decrease in the number of lactobacilli, bifidobacteria and the prevalence of pathogenic groups of microorganisms. The authors have developed and proposed a modification of the method of selective isolation and cultivation of lactobacilli with use of the uterine environment from plant glycogen which lactobacilli are populated after growing them on selective medium. Own strains of vaginal lactobacilli enables efficient recovery of the vaginal flora and the absence of microflora *Candida spp.* indicates the enhancement of colonization resistance of the vagina. Testing of the method showed its high efficiency. Check up before giving birth persistent clinical effect was observed in 92.5 % of patients, for the restoration of biocenosis of the vagina who were subjected to culture your own *Lactobacillus* strains.

Keywords: gestational pyelonephritis, disorders of biocenosis of the vagina, uterine environment, autostrains lactobacilli, restore the vaginal flora, normocenosis, increase colonization resistance.

Частота пиелонефрита при беременности, по данным отечественных авторов, колеблется от 12,2 до 38,8 % и имеет выраженную тенденцию к росту [4, 6]. Рост частоты пиелонефрита у беременных связывают с изменением иммунного и гормонального статусов, способствующим возрастанию роли условно-патогенных возбудителей и переходом их в

патогенные.

Результаты микробиологических исследований [3] свидетельствуют о выраженных нарушениях в микробиоценозе влагалища у беременных с гестационным пиелонефритом, характеризующихся изменениями в составе облигатной влагалищной микрофлоры, уменьшением количества лактобактерий, бифидобактерий и преобладанием условно-патогенной группы микроорганизмов. Значительное снижение числа или отсутствие лактобактерий на фоне увеличения условно-патогенной микрофлоры наблюдается в результате проведенной антибактериальной терапии [1]. Формирующийся дисбиоз влагалища вызывает осложнения беременности.

Восстановление биоценоза после антибактериальной терапии гестационного пиелонефрита часто не проводится вообще либо проводится с использованием чужеродных лактобацилл и бифидобактерий, в результате не удается достичь стойкого увеличения титров лакто- и бифидобактерий из-за низкого уровня приживаемости чужеродных штаммов микроорганизмов во влагалище. В 16–27 % наблюдений после восстановления биоценоза у беременных отмечают рецидивы заболеваний: развивается бактериальный вагиноз и вагинальный кандидоз [5].

Принимая во внимание вышеизложенное, актуальным остается поиск методов коррекции нарушений биоценоза влагалища во время лечения гестационного пиелонефрита антибактериальными препаратами и эффективного восстановления влагалищной микрофлоры после указанной терапии.

### **Цель исследования**

Изучить состояние биоценоза влагалища у беременных женщин до и после антибактериальной терапии гестационного пиелонефрита, определить варианты нарушений микробиоценоза после данной терапии и предложили метод культивирования лактобацилл в маточной среде из растительного гликогена. Культура аутолактобацилл использовалась для коррекции нарушенного биоценоза у беременных после лечения гестационного пиелонефрита.

### **Материал и методы исследования**

Нами обследованы 115 первобеременных женщин с диагнозом «гестационный пиелонефрит», который впервые поставлен во время данной беременности. Средний возраст женщин составил  $23 \pm 2,27$  года. Острый пиелонефрит во время беременности был выявлен: в I триместре – у 5 пациенток (4,3 %), во II триместре – у 86 (74,8 %), в III триместре – у 24 женщин (20,9 %).

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Наиболее ярко клинические симптомы нарушений биоценоза влагалища были

выражены у беременных с гестационным пиелонефритом во II триместре. У них чаще наблюдались выделения из половых путей: обильные, с «рыбным» запахом, белого цвета, гомогенные, с творожистыми включениями. При осмотре слизистых оболочек половых органов выявлялась гиперемия вульвы и влагалища.

Ключевым моментом при проведении лабораторных исследований являлось изучение параметров влагалищной жидкости. Проведение микробиологического анализа предусматривало прежде всего изучение биоценоза влагалища у пациенток с гестационным пиелонефритом с целью диагностики дисбиотических нарушений и эффективности восстановления микроценоза в процессе лечения. Микроскопическую характеристику биоценоза влагалища проводили согласно рекомендациям Е. Ф. Кира [2].

Микробиологическое исследование позволило обнаружить, что этиологическим фактором острого гестационного пиелонефрита наиболее часто служила *Escherichia coli* (67,4 %). При изучении состояния биоценоза влагалища (при поступлении в стационар) нормоценоз выявлен у 11 пациенток (9,6 %), промежуточный тип – у 48 женщин (41,7 %), дисбиоз – у 44 (38,3 %), вагинальный кандидоз – у 12 (10,4 %) обследуемых. Можно заключить, что у женщин с гестационным пиелонефритом нарушение биоценоза влагалища имелось в 90,4 % случаев.

Основным компонентом лечения гестационного пиелонефрита являлась антибактериальная терапия, которая подбиралась с учетом чувствительности микроорганизмов и срока беременности. В сочетании с антибиотиками назначались растительные уросептики.

После проведенной антибактериальной терапии у обследованных женщин снизилась частота выявления гиперемии вульвы и влагалища при осмотре слизистых оболочек половых органов с  $22,1 \pm 2,1$  % до  $15,1 \pm 2,3$  %, различия достоверны. Увеличилась частота выявления обильных ( $90,7 \pm 7,6$  %), прозрачных ( $73,2 \pm 6,4$  %), жидких ( $89,5 \pm 7,5$  %), неомогенных ( $34,9 \pm 4,0$  %) вагинальных выделений, отмечалось снижение частоты наличия «рыбного» запаха выделений, но возросла частота обнаружения творожистых включений во влагалищном содержимом. Следовательно, антибактериальные препараты нарушают состояние нормоценоза и усугубляют дисбиотический процесс во влагалище беременных.

На основании полученных данных выявлены 4 варианта биоценоза влагалища у беременных после антибактериального лечения гестационного пиелонефрита. Вариант I характеризовался резким уменьшением или отсутствием микроорганизмов во влагалище (41 %), вариант II – наличием единичных лактобактерий (27,9 %), вариант III – присутствием аэробной и анаэробной флоры без лактобацилл (15,2 %), вариант IV – наличием мицелия (15,9 %).

В отечественной акушерской практике для восстановления нормальной микрофлоры влагалища широко используются аллогенные и гетерогенные биопрепараты, такие как «Ацилакт», «Лактобактерин», «Бифидобактерин» и др., созданные на основе штаммов кишечного и растительного происхождения, что не соответствует индивидуальному микробиоценозу женщины. При введении во влагалище они не могут обеспечить длительного и стойкого действия. Эффективный препарат-пробиотик должен обладать набором биологических свойств, позволяющим ему колонизировать определенную микрoэкологическую нишу и успешно конкурировать с другими микробными ассоциациями. Лишь применение пробиотиков, созданных на основе вагинальных аутоштаммов лактобактерий, позволит эффективно восстанавливать индивидуальную молочнокислую флору Додерлейн и индивидуальный биоценоз во влагалище.

Аутоштаммы лактобактерий могут быть выделены до начала антибактериальной терапии, их заселение можно начинать сразу после окончания санации влагалища. Однако процесс выделения и культивирования аутоштаммов лактобацилл требует дорогостоящих селективных сред, а для получения маточной культуры собственных лактобацилл требуется неоднократное пересевание из среды в среду и культивирование в специальных анаэробных условиях. Нами разработана и предложена модификация способа селективного выделения и культивирования лактобацилл с использованием маточной среды из растительного гликогена, в которую лактобациллы заселяются после первого выращивания их на селективной среде (рационализаторское предложение № 589 от 09.04.08).

Как основная, маточная среда для культивирования флоры Додерлейн нами использовался крахмал, имеющий сходное строение с гликогеном, который является питательным субстратом для группы лактобактерий, вырабатывающих в процессе брожения углеводов молочную кислоту. Для получения маточной среды крахмал подвергался температурному ( $t$  110–120 °С при давлении 0,2–0,4 атм.) и кислотному гидролизу, для чего использовалась молочная кислота в количестве, необходимом для получения рН среды от 3,8 до 4,0. После такой обработки маточная среда представляла собой однородный гель, который помещался в герметичные пробирки «Фолькон» емкостью 50 мл.

Модифицированный способ селективного выращивания молочнокислой флоры с использованием среды из растительного гликогена был апробирован на 15 пациентках.

После доставки транспортной среды Кэрри Блэйр для бактерий-анаэробов образец сразу же помещался в 1,5 мл фосфатного буферного раствора и центрифугировался, затем 100 мкл помещались на селективный агар Rogosa Lactobacillus. Засеянный агар Rogosa Lactobacillus инкубировался при 37 °С в анаэробной камере в течение 48–72 ч. Выделенные штаммы лактобактерий до начала антибактериальной терапии пересеивались в ламинарном

боксе со среды агар Rogosa Lactobacillus в маточную среду из растительного гликогена. Затем наполненные пробирки герметично закрывались и помещались в термостат для инкубации при 37 °С в анаэробных условиях в течение 48–72 ч.

После инкубации производился забор маточной среды для бактериоскопического исследования мазков, окрашенных по Грамму, определялся рН среды. Микроскопия мазков показала, что после культивирования в среде из растительного гликогена определяются однородные грамположительные палочки в количестве 60–100 в каждом поле зрения при 400-кратном увеличении, другая флора не визуализируется. Среднее значение рН среды составило  $3,8 \pm 0,11$ . Таким образом, в маточной среде из растительного гликогена происходит размножение лактобацилл, и она готова к применению.

При идентификации микробных культур в маточной среде из растительного гликогена после культивирования установлено, что *Lactobacillus* spp. выявляются в количестве  $10^4$  и более КОЕ/г и в концентрации Ig  $6,5 \pm 0,21$  КОЕ/г, *Bifidobacterium* spp. – в количестве 10 и менее КОЕ/г и в концентрации Ig  $1,17 \pm 0,11$  КОЕ/г. Другая микрофлора не высевалась.

При анализе данных, полученных от 15 пациенток, оказалось, что семидневный период инкубации от момента забора материала до получения готовой маточной среды достаточен, после чего ее можно использовать для восстановления индивидуального микробиоценоза женщины.

Заселение влагалища собственными лактобациллами возможно несколькими способами:

- 1) приготовление свечей или шариков из маточной среды;
- 2) шприцевое введение 2–3 мл маточной среды;
- 3) использование вагинальных тампонов типа «Тампекс», пропитанных маточной средой и введенных во влагалище на 1–2 часа;
- 4) обработка влагалища стерильным тампоном, пропитанным маточной средой (врачом или медсестрой).

Заселение влагалища культурой собственных лактобацилл в данных исследованиях мы проводили вторым и четвертым способом 2 раза в день утром и вечером в течение 10 дней (через 3 суток после окончания антибактериальной терапии). Учитывая, что максимальная колонизация влагалища флорой Додерлейн у женщин репродуктивного возраста отмечается во вторую фазу менструального цикла, мы после проведения двухэтапного лечения бактериального вагиноза за 5–7 дней до начала очередной ожидаемой менструации производили забор вагинального отделяемого для бактериоскопического и микробиологического исследования.

Бактериоскопия влажных и окрашенных по Грамму мазков показала эффективность

восстановления биоценоза влагалища культурой собственных лактобацилл после первого этапа лечения бактериального вагиноза. У всех женщин лактобактерии в вагинальном отделяемом занимали доминирующее положение, отсутствовали лейкоциты, присутствовали единичные чистые эпителиальные клетки, условно-патогенная флора в незначительном количестве. Следует отметить, что ни в одном мазке не обнаружены мицелий, псевдогифы грибов, хотя после санации влагалища в 20 % случаев (III вариант биоценоза) они присутствуют.

### **Выводы**

Таким образом, собственные штаммы вагинальных лактобактерий обеспечивают эффективное восстановление микрофлоры влагалища, а отсутствие в микрофлоре *Candida spp.* указывает на повышение колонизационной резистентности влагалища.

С целью изучения терапевтической и профилактической эффективности восстановления биоценоза культурой собственных штаммов лактобацилл в нашей работе использовалось рандомизированное двойное слепое исследование. Сотрудниками кафедры акушерства и гинекологии № 1 ГОУ ВПО «СамГМУ» был разработан график рандомизации и обеспечена верификация распределения. Для случайного распределения пациенток с гестационным пиелонефритом на группы, получавшие культуру штаммов собственных лактобацилл или плацебо, использовалась компьютерная программа – генератор случайных чисел с балансом по десяткам.

В результате рандомизированного исследования 86 беременных были разделены на 2 группы: I – беременные, которым проводилась коррекция сформировавшегося дисбиоза после антибактериальной терапии пиелонефрита с применением культуры аутолактобацилл, n = 40; II – беременные, которым не проводилась коррекция дисбиотических нарушений после курса антибактериальной терапии, n = 46. Коррекция дисбиотических нарушений во влагалище в I группе проводилась дифференцированно, в зависимости от варианта биоценоза.

На 4-й день после окончания курса антибактериальной терапии в I группе (при I, II, III вариантах биоценоза) решено начать восстановление нарушенного микробиоценоза влагалища собственными живыми лактобактериями с целью формирования индивидуального биоценоза. У 6 беременных из данной группы (IV вариант биоценоза) восстановление биоценоза начиналось сразу по окончании курса антимикотической терапии вагинального кандидоза. Культура аутолактобацилл вводилась интравагинально в течение 10 дней перед сном.

После данной терапии проведено очередное микроскопическое исследование влагалищной жидкости пациенток I и II групп. В I группе нормоценоз выявлен в  $82,5 \pm 5,2$  %

случаев после коррекции дисбиотических нарушений с помощью культуры аутолактобацилл, промежуточный тип биоценоза – в  $17,5 \pm 1,3$  %, дисбиоза не выявлено. Во II группе, где использовалось плацебо, не выявлено нормоценоза, промежуточный тип регистрировался в  $36,8 \pm 2,8$  % случаев, отмечалась высокая частота дисбиоза влагалища –  $44,7 \pm 3,4$  %. Вагинальный кандидоз диагностирован у  $18,5 \pm 1,3$  % женщин.

При последнем контрольном обследовании перед родами стойкий клинический эффект (нормоценоз влагалища) отмечен у 92,5 % пациенток, для восстановления биоценоза влагалища которых применялась культура собственных штаммов лактобацилл. В группе беременных без восстановления биоценоза после антибактериальной терапии наблюдалось отсутствие нормальной картины влагалищного мазка. Во второй группе женщин ухудшение состояния биоценоза влагалища выявлялось при каждом контрольном осмотре.

Таким образом, применение на втором этапе лечения острого гестационного пиелонефрита метода восстановления биоценоза влагалища после антибактериальной терапии обуславливает положительные тенденции в состоянии микроэкологии влагалища. Параллельно с формированием у беременных нормоценоза улучшаются и другие параметры: исчезают бели, нормализуется количество влагалищной жидкости, при рН-метрии снижается водородный показатель, вагинальная среда становится более кислой, аминный тест становится отрицательным. Собственные штаммы вагинальных лактобактерий эффективно восстанавливают микрофлору влагалища, а отсутствие в микрофлоре *Candida spp.* свидетельствует о повышении его колонизационной резистентности.

### Список литературы

1. Кажина М. В. Изменение микробиоценоза влагалища у больных с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза после антибактериальной терапии / М. В. Кажина, А. И. Жмакин, Л. П. Титов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 3. – С. 75-78.
2. Кира Е. Ф. Бактериальный вагиноз. – СПб.: ООО «Нева-люкс», 2001. – 364 с.
3. Михайлов И. В. Гестационный пиелонефрит: клинико-патогенетические и диагностические аспекты: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.40. – Саратов, 2006. – 42 с.
4. Руденко Ю. А., Кравцова О. А., Никулина И. Е., Балтер Р. Б. Беременные с бактериальным вагинозом в условиях неблагоприятной экологической среды // Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения. – Ульяновск, 2014. – С. 95-99.
5. Стрижаков А. Н. Система обследования и лечения беременных с нарушениями

микроценоза родовых путей, инфекциями, передаваемыми половым путем, и восходящим инфицированием плода / А. Н. Стрижаков, О. Р. Баев, П. В. Будаков // Акушерство и гинекология. – 2003. – № 1. – С. 47-52.

б. Целкович Л. С., Васюхина А. А., Никулина И. Е., Балтер Р. Б. Осложнения беременности и родов у женщин с бактериальным вагинозом // Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения. – Ульяновск, 2014. – С. 126-129.