

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ВЛАГАЛИЩА У ДЕВОЧЕК В ПУБЕРТАТНОМ ПЕРИОДЕ

Уварова Е.В.¹, Казакова А.В.²

¹ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва; □

²ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, e-mail info@samsmu.ru

Проведен анализ показателей микроценоза влагалища у девочек в пубертатном периоде полового созревания. Критерии возрастного интервала выбранных групп были обусловлены основными этапами формирования репродуктивной системы. Количество обследованных девочек составило 115, из них девочек от менархе до 15 лет — 44 человека, от 15 лет до 18 лет — 71. Исследование состояния влагалищного микробиоценоза проводили при помощи комплексной количественной полимеразной цепной реакции с использованием тест-систем «Фемофлор-17». При оценке состава условно-патогенной флоры учитывалось не только ее присутствие, но и количество по отношению к общей бактериальной массе. Сравнительный анализ микробного пейзажа влагалища в пубертатном периоде полового развития показал, что в составе микрофлоры в зависимости от фазы пубертата достоверных различий нет. Микрофлора влагалища в основном представлена *Lactobacillus* spp. и незначительной долей анаэробных микроорганизмов, лидирующее положение из которых занимает *Gardnerella*.

Ключевые слова: микроценоз, пубертатный период, общая бактериальная масса

COMPARATIVE ANALYSIS OF VAGINAL MICROFLORA IN FEMALES IN THE PUBERTY PERIOD

Uvarova E.V.¹, Kazakova A.V.²

¹ Federal State Budget Institution «Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology», Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow;

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Samara State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Samara, e-mail: info@samsmu.ru

We have evaluated and analyzed the vaginal microcenesosis in adolescent females. The criteria of the choice of the age intervals subjected to the study are their relation to the main formation stages of the reproductive system. The research covered 115 females, including 44 girls from menarche stage to the age of 15 and 71 girls aged 15-18. The condition of vaginal microbiocenosis was estimated through the complex quantitative polymerase chain reaction involving the use of «Femoflor-17» test-system. While evaluating potentially pathogenic microflora we not only considered its presence but also its quantity as related to the total bacterial number. The comparative analysis of vaginal microflora in puberty showed neither relevance of the microflora composition to the puberty stage nor the significant difference between the stages. The vaginal microflora is mainly represented by *Lactobacillus* spp. and an insignificant amount of anaerobic microorganisms amongst which *Gardnerella* is prevalent.

Keywords: microcenesosis, puberty, total bacterial number

В настоящее время большое внимание уделяется проблеме микробной флоры влагалища, имеющей большое значение в формировании репродуктивного здоровья у детей и подростков.

В структуре гинекологической пораженности доля воспалительных заболеваний вульвы и влагалища занимает лидирующее значение.

На современном этапе развития детской гинекологической помощи мало исследований, посвященных изучению микрофлоры влагалища, учитывая периоды полового развития девочки [2–6]. В результате норма биоценоза влагалища, изменяющаяся в

зависимости от стадии полового развития ребенка, описываемая разными авторами, имеет много вариаций, что не дает возможности стандартизировать эти показатели. Вследствие этого практический врач не всегда в состоянии оценить микрофлору влагалища как имеющую прямое отношение к патологическому процессу. В ряде случаев существует гипердиагностика вульвовагинитов за счет того, что случайные находки и комменсалы полового тракта принимаются за патогенный фактор [1, 8–10].

Становится очевидной необходимость определения микробиологической картины и стандартизации показателей микрофлоры половых путей в зависимости от стадии полового созревания для дальнейшего использования их в практике врача детской и подростковой гинекологии.

Целью нашего исследования явилось изучение показателей микроценоза влагалища у девочек в пубертатном периоде полового созревания.

Задачи:

1. Сформировать группы девочек, участвующих в исследовании, учитывая этапы формирования репродуктивной системы.
2. Определить микробиологические характеристики влагалища методом комплексной количественной полимеразной цепной реакции с использованием тест-систем «Фемофлор-17» в группах девочек от менархе до 15 лет и 16–18 лет.
3. Выявить закономерности изменения микрофлоры и стандарты влагалищного биотопа у здоровых девочек в периоде пубертата.

Материалы и методы исследования

Взятие биоматериала осуществлялось на базе детского поликлинического отделения № 1 ГБУЗ СО СГП № 13 с февраля по август 2015 г., при подписании пациенткой или законным представителем информированного согласия на проведение исследования.

Количество обследованных девочек составило 115 человек, из них девочек от менархе до 15 лет — 44 человека, от 15 лет до 18 лет — 71. Критерии возрастного интервала выбранных групп были обусловлены основными этапами формирования репродуктивной системы.

Критерии включения: здоровые девочки, проходившие профилактический осмотр с отсутствием жалоб, неизменной слизистой влагалища, а также физиологическими выделениями из половых путей.

Критерии исключения: применение антибактериальных препаратов за месяц до обследования, отсутствие тяжелой экстрагенитальной патологии и наличие острых воспалительных заболеваний на момент осмотра и забора материала.

Исследование состояния влагалищного микробиоценоза проводили при помощи

комплексной количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием тест-систем «Фемофлор-17» (производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Материалом для исследования методом комплексной количественной ПЦР у девочек являлся соскоб эпителиальных клеток, который забирался из заднего свода влагалища через гименальное кольцо. Хранение материала осуществлялось при температуре 2–8°C не более 8 ч, далее при температуре –20°C в течение 1 месяца или при температуре –70°C в течение 1 года.

Всего исследовано 115 образцов соскобов отделяемого слизистой влагалища. Спектр диагностируемых показателей включал КВМ (контроль взятия материала), ОБМ (общая бактериальная масса), наличие микоплазм (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp.), дрожжеподобных грибов (*Candida* spp.); *Lactobacillus* spp., (*Enterobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.), (*Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp./*Corinebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*), а также идентификацию патогенов (*Mycoplasma genitalium*).

Заключение по результатам диагностического теста Real-Time PCR получали в виде диаграммы, которая описывала вид микробной флоры влагалища.

Рассчитывали абсолютные (в логарифмах полученных показателей бактериальной массы условно-патогенного организма Lg_{10} УПМ) и относительные показатели (разница логарифмов полученных показателей общей бактериальной массы условно-патогенного организма (УПМ) и общей бактериальной массы (ОБМ) — Lg_{10} УПМ – Lg_{10} ОБМ). Оценку наличия *Candida* spp., *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma genitalium* проводили только в абсолютных показателях.

При оценке состава условно-патогенной флоры учитывалось не только ее присутствие, но и количество по отношению к общей бактериальной массе (ОБМ). Также определялось количество лактобактерий по отношению к общей бактериальной массе.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерного программного пакета (Microsoft Office Excel 2007).

Результаты исследования

Пубертатный период, который продолжается от начала первой менструации и до 18 лет, делится на 2 фазы. Первая фаза пубертатного периода (с менархе до полных 15 лет) характеризуется периодическим и последовательным выделением эстрогенов. С 16 лет начинается вторая фаза пубертатного периода репродуктивной системы, которая характеризуется синхронизацией деятельности центрального и периферического звена

репродуктивной системы. С началом менструальной функции, когда уровень половых гормонов резко увеличивается и происходит становление менструации, pH влагалища меняется, и среда приобретает высокую кислотность. Всех исследуемых мы разделили на группы с учетом фазы пубертатного периода.

В группе девочек с менархе до 15 лет мы обнаружили, что у 89% исследуемых Lg_{10} Lactobacillus spp. в среднем составил $7,17 \pm 0,22$, у 41% Lg_{10} Enterobacteriaceae — $4,03 \pm 0,20$, у 34% Lg_{10} Streptococcus spp. — $4,19 \pm 0,19$, у 55% Lg_{10} Staphylococcus spp. — $4,04 \pm 0,17$, у 86% Lg_{10} Gardnerella vaginalis — $5,59 \pm 0,24$, у 91% Lg_{10} Eubacterium spp. — $5,40 \pm 0,19$, у 45% Lg_{10} Sneathia — $5,13 \pm 0,37$, у 75% Lg_{10} Megaspheara spp.— $4,94 \pm 0,26$, у 64% Lg_{10} Lachnobacterium spp. — $4,48 \pm 0,17$, у 89% Lg_{10} Mobiluncus spp. — $4,46 \pm 0,15$, у 84% Lg_{10} Peptostreptococcus spp. — $4,56 \pm 0,20$, у 68% Lg_{10} Atopobium vaginae — $3,22 \pm 0,40$, у 5% Lg_{10} Mycoplasma hominis (1) — $2,05 \pm 0,75$, Mycoplasma genitalium (2) не выявлены, у 34% Lg_{10} Ureaplasma — $4,82 \pm 0,25$, у 18% Lg_{10} Candida spp. — $4,41 \pm 0,29$. Общая бактериальная масса в среднем составила Lg_{10} ОБМ $7,60 \pm 0,12$ (табл. 1).

Таблица 1

Состав влагалищного микроценоза у девочек от менархе до 15 лет

Микроорганизм	n	%	M±m
Общая бактериальная масса	44	100%	$7,60 \pm 0,12$
lactobacillus	39	89%	$7,17 \pm 0,22$
Enterobacteriac.	18	41%	$4,03 \pm 0,20$
Streptococ.	15	34%	$4,19 \pm 0,19$
staphylococ.	24	55%	$4,04 \pm 0,17$
gardnerella	38	86%	$5,59 \pm 0,24$
eubact.	40	91%	$5,40 \pm 0,19$
sntathia	20	45%	$5,13 \pm 0,37$
megasphera	33	75%	$4,94 \pm 0,26$
lachnobact	28	64%	$4,48 \pm 0,17$
mobiluncus	39	89%	$4,46 \pm 0,15$
peptstrept.	37	84%	$4,56 \pm 0,20$
atopobium	30	68%	$3,22 \pm 0,40$
micoplazma1	2	5%	$2,05 \pm 0,75$
micoplazma2	0	0%	—
ureaplazma	15	34%	$4,82 \pm 0,25$
candida	8	18%	$4,41 \pm 0,29$

В группе девочек 16–18 лет (табл. 2) мы обнаружили, что у 87% исследуемых Lg_{10} *Lactobacillus* spp. в среднем составил $7,30 \pm 0,15$, у 32% Lg_{10} *Enterobacteriaceae* — $3,97 \pm 0,19$, у 32% Lg_{10} *Streptococcus* spp. — $4,46 \pm 0,33$, у 49% Lg_{10} *Staphylococcus* spp. — $3,98 \pm 0,16$, у 86% Lg_{10} *Gardnerella vaginalis* — $5,38 \pm 0,19$, у 93% Lg_{10} *Eubacterium* spp. — $5,10 \pm 0,16$, у 44% Lg_{10} *Sneathia* — $4,94 \pm 0,29$, у 75% Lg_{10} *Megasphaera* spp. — $4,73 \pm 0,22$, у 49% Lg_{10} *Lachnobacterium* spp. — $4,31 \pm 0,20$, у 86% Lg_{10} *Mobiluncus* spp. — $4,17 \pm 0,10$, у 65% Lg_{10} *Peptostreptococcus* spp. — $4,49 \pm 0,14$, у 73% Lg_{10} *Atopobium vaginae* — $3,73 \pm 0,33$, у 11% Lg_{10} *Mycoplasma hominis* (1) — $4,50 \pm 0,40$, у 3% Lg_{10} *Mycoplasma genitalium* (2) — $1,00 \pm 0,00$, у 54% Lg_{10} *Ureaplasma* — $4,31 \pm 0,20$, у 28% Lg_{10} *Candida* spp. — $3,54 \pm 0,13$. Общая бактериальная масса в среднем составила Lg_{10} ОБМ $7,61 \pm 0,10$.

Таблица 2

Состав влагалищного микроценоза у девочек от 16 до 18 лет

Микроорганизм	n	%	M±m
Общая бактериальная масса	71	100%	$7,61 \pm 0,10$
<i>lactobacillus</i>	62	87%	$7,30 \pm 0,15$
<i>Enterobacteriac.</i>	23	32%	$3,97 \pm 0,19$
<i>Streptococ.</i>	23	32%	$4,46 \pm 0,33$
<i>staphylococ.</i>	35	49%	$3,98 \pm 0,16$
<i>gardnerella</i>	61	86%	$5,38 \pm 0,19$
<i>eubact.</i>	66	93%	$5,10 \pm 0,16$
<i>sntathia</i>	31	44%	$4,94 \pm 0,29$
<i>megasphaera</i>	53	75%	$4,73 \pm 0,22$
<i>lachnobact</i>	35	49%	$4,31 \pm 0,20$
<i>mobiluncus</i>	61	86%	$4,17 \pm 0,10$
<i>peptstrept.</i>	46	65%	$4,49 \pm 0,14$
<i>atopobium</i>	52	73%	$3,73 \pm 0,33$
<i>micoplazma1</i>	8	11%	$4,50 \pm 0,40$
<i>micoplazma2</i>	2	3%	$1,00 \pm 0,00$
<i>ureaplazma</i>	38	54%	$4,31 \pm 0,20$
<i>candida</i>	20	28%	$3,54 \pm 0,13$

При сравнительном анализе групп менархе 15 лет и 16–18 лет достоверных изменений микробиоценоза не выявлено. Из тенденции следует отметить: количество Lg_{10} *Lachnobacterium* spp. уменьшается с $4,48 \pm 0,17$ до $4,31 \pm 0,20$ ($p=0,055$) в группе девочек 16–18

лет; количество Lg_{10} *Peptostreptococcus* spp. также уменьшается в этой группе с $4,56 \pm 0,20$ до $4,49 \pm 0,14$ ($p=0,098$).

Учитывая отсутствие достоверных изменений в составе влагалищного биотопа у девочек в группе от менархе до 15 лет и в группе девочек от 16 до 18 лет, мы изучили состав микроорганизмов во влагалище у девочек объединенной группы.

Состав влагалищного микроценоза у девочек от менархе до 18 лет представлен в табл. 3. Общая бактериальная масса в среднем составила Lg_{10} ОБМ $7,61 \pm 0,08$.

Таблица 3

Состав влагалищного микроценоза у девочек от менархе до 18 лет

Микроорганизм	n	%	M±m	Min	Max
Общая бактериальная масса	115	100,0%	$7,61 \pm 0,08$	5,2	9,2
<i>lactobacillus</i>	101	87,8%	$7,25 \pm 0,12$	3	9
<i>Enterobacteriac.</i>	41	35,7%	$4,00 \pm 0,14$	3	6,8
<i>Streptococ.</i>	38	33,0%	$4,35 \pm 0,21$	3	7,7
<i>staphylococ.</i>	59	51,3%	$4,00 \pm 0,12$	3	7,1
<i>gardnerella</i>	99	86,1%	$5,46 \pm 0,15$	3	8,6
<i>eubact.</i>	106	92,2%	$5,22 \pm 0,12$	3,1	8,2
<i>sntathia</i>	51	44,3%	$5,01 \pm 0,23$	3	8,3
<i>megasphera</i>	86	74,8%	$4,81 \pm 0,17$	3	7,9
<i>lachnobact</i>	63	54,8%	$4,38 \pm 0,13$	3	8,8
<i>mobiluncus</i>	100	87,0%	$4,28 \pm 0,09$	3	6,5
<i>peptstrept.</i>	83	72,2%	$4,52 \pm 0,12$	3	7,6
<i>atopobium</i>	82	71,3%	$3,54 \pm 0,26$	0,1	8
<i>micoplazma1</i>	10	8,7%	$4,01 \pm 0,47$	1,3	6
<i>micoplazma2</i>	2	1,7%	$1,00 \pm 0,00$	1	1
<i>ureaplazma</i>	53	46,1%	$4,45 \pm 0,16$	1,6	6,6
<i>candida</i>	28	24,3%	$3,79 \pm 0,14$	3	5,4

В группе девочек с менархе до 18 лет у 87,8% исследуемых Lg_{10} *Lactobacillis* spp. в среднем составил $7,25 \pm 0,12$, у 86,1% Lg_{10} *Gardnerella vaginalis* — $5,46 \pm 0,15$, у 92,2% Lg_{10} *Eubacterium* spp. — $5,22 \pm 0,12$, у 35,7% Lg_{10} *Enterobacteriaceae* — $4,00 \pm 0,14$, у 87% Lg_{10} *Mobiluncus* spp. — $4,28 \pm 0,09$, у 74,8% Lg_{10} *Megasphera* spp. — $4,81 \pm 0,17$, у 72,2% Lg_{10}

Peptostreptococcus spp. — $4,52 \pm 0,12$, у 71,3% Lg₁₀ Atopobium vaginae — $3,54 \pm 0,26$, у 54,8% Lg₁₀ Lachnobacterium spp. — $4,38 \pm 0,13$, 51,3% Lg₁₀ Staphylococcus spp. — $4,00 \pm 0,12$, у 46,1% Lg₁₀ Ureaplasma — $4,45 \pm 0,16$, у 44,3% Lg₁₀ Sneathia — $5,01 \pm 0,23$, у 33% Lg₁₀ Streptococcus spp. — $4,35 \pm 0,21$, у 24,3% Lg₁₀ Candida spp. — $3,79 \pm 0,14$, у 8,7% Lg₁₀ Mycoplasma hominis (1) — $4,01 \pm 0,47$, у 1,7% Mycoplasma genitalium (2) — $1,00 \pm 0,00$.

Таким образом, сравнительный анализ микробного пейзажа влагалища в пубертатном периоде полового развития показал, что в составе микрофлоры в зависимости от фазы пубертата достоверных различий нет. Микрофлора влагалища в основном представлена Lactobacillus spp. и незначительной долей анаэробных микроорганизмов, лидирующее положение из которых занимает Gardnerella.

Список литературы

1. Анкирская А.С., Муравьева В.В. Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов // Медицинская технология. М., 2011.
2. Возрастные особенности иммунитета у детей: лекция для врачей / Л.А. Щеплягина, В.М. Чернов, И.В. Круглова [и др.]. М.: Анита Пресс, 2010. — 35 с.
3. Коколина В.Ф. Диагностика и лечение урогенитальных инфекций у детей и подростков: пособие для врачей. М.: Копиринг, 2010. — 36 с.
4. Основные закономерности развития репродуктивной системы девочек: пособие для врачей / А.В. Казакова, Н.В. Спиридонова, О.И. Линева. Самара: Офорт, 2013. — 52 с.
5. Плотко Е.Э., Донников А.Е., Ворошила Е.С., Хаютин Л.В., Тумбинская Л.В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? // «Акушерство и гинекология». — 2011. — № 1. — С. 66–70.
6. Спиридонова Н.В. Неспецифический вагинит у беременных: возможно ли лечение с сохранением вагинальных лактобацилл? [Текст] / Н.В. Спиридонова, Е.И. Басина, Е.В. Мелкадзе // «Акушерство. Гинекология. Репродукция». — 2012. — Т. 6, № 1. — С. 6–13.
7. Спиридонова Н.В. Особенности микробного пейзажа влагалища у девочек со слипчивым процессом наружных половых органов / Н.В. Спиридонова, А.В. Казакова // «Российский вестник акушера-гинеколога». — 2014. — № 2. — С. 82–86.
8. Спиридонова Н.В., Казакова А.В. Микробный пейзаж влагалища в зависимости от слипчивого процесса гениталий девочек нейтрального возраста / Н.В. Спиридонова // Фундаментальные исследования. — 2015. — № 1-3. — С. 603–608.
9. Уварова Е.В. Детская и подростковая гинекология: руководство для врачей. М.:

Литерра, 2009. – 375 с.

10. Уварова Е.В. Специалистам об интимной гигиене девочек от рождения до половой зрелости // Репродукт. здоровье детей и подростков. – 2010. – № 2. – С. 87–92.