

Мікробіоти піхви, каналу шийки матки та порожнини матки при хронічному ендометриті

А.Д. Гайдук

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика,
м. Київ

Мета дослідження: визначити профіль мікробіоти піхви, каналу шийки матки та порожнини матки при хронічному ендометриті у пацієнток з невдалими спробами допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) в анамнезі.

Матеріали та методи. Проведено проспективне дослідження та клініко-лабораторний аналіз мікробіоценозу піхви, каналу шийки матки та порожнини матки у жінок із хронічним ендометритом в анамнезі на базі МЦ ТОВ «ISIDA – IVF» за період з 2020 до 2021 рр. До I групи увійшли 55 жінок репродуктивного віку з хронічним ендометритом і повторними невдалими спробами ДРТ. В контрольну групу включено 40 жінок репродуктивного віку без порушення фертильності.

Обсяг досліджень: рН-метрія вагінальних виділень, оцінка мікробіоценозу піхви за даними мікроскопії мазка, пофарбованого за Грамом, дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції, культуральне дослідження вагінальних виділень, вивчення мікрофлори каналу шийки матки та біоптату ендометрія.

Результати. У жінок з безпліддям на тлі хронічного ендометриту в анамнезі в результаті бактеріального посіву з порожнини матки виявлено переважання змішаної бактеріальної флори, які представлені різними асоціаціями умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів. Хронічний запальний процес ендометрія обумовлений персистуючою вірусно-бактеріальною інфекцією в порожнині матки, яка відрізняється видовим складом від мікрофлори нижніх відділів статевих шляхів.

Заклучення. Характерною особливістю вагінальної флори при хронічному ендометриті є високий рівень дисбіотичних змін, поєднаний з високими показниками обсіменіння умовно-патогенною флорою. Мікробіоти каналу шийки матки та ендометрія при запальних процесах ендометрія характеризуються переважанням облигатно-анаеробних мікроорганізмів у вигляді асоціацій з вірусною інфекцією, значно частіше більш ніж у 2 рази, виявлені в ендцервіксі порівняно з ендометрієм.

Ключові слова: мікробіота, допоміжні репродуктивні технології, хронічний ендометрит.

У більшості випадків запальні захворювання органів малого таза (ЗЗОМТ) мають полімікробний характер [1, 2]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, у жінок репродуктивного віку етіологічним фактором ЗЗОМТ у 50–60% випадків виступають аеробні та анаеробні мікроорганізми, різні варіанти їх асоціацій, у тому числі з вірусною та грибовою флорою [3-5]. Кількість пацієнток з хронічною запальною патологією статевих органів у всьому світі різняться. Наприклад, за деякими даними, в 60% випадків хворі з ЗЗОМТ отримують терапію на амбулаторному етапі, в 30% випадків доводиться надавати допомогу в стаціонарних умовах.

При певних ситуаціях будь-який мікроорганізм вагінальної мікробіоти стає етіологічним фактором запального процесу. У патогенетичному механізмі хронічного запалення можуть спостерігатись процеси, які майже неможливо визначити об'єктивними методами діагностики; наприклад, альтерацію тканини спричинюють не тільки бактерії та віруси, а й екзо- та ендотоксини, клітинні та гуморальні реакції, що відбуваються в організмі хворої, які призводять до додаткового пошкодження клітини, провокуючи початок низки аутоімунних процесів; запальні захворювання з високою ймовірністю набувають затяжного перебігу та лікування таких патологій тяжке [6-8].

У медичній літературі останніх років продемонстровано, що при первинній терапії ЗЗОМТ у пацієнток через 7 років більш ніж в 21% випадків відзначається рецидивуючий перебіг хвороби, більш ніж у 5% випадків регулярно потрібні повторні курси протизапальної терапії, у 19% пацієнток діагностують безпліддя та більше 40% страждають від тазової болі [4, 9-11]. Збільшується кількість пацієнток з хронічним ендометритом (ХЕ). Ця хвороба часто проявляється розвитком ускладнень у вигляді порушення менструальної функції, безпліддя, формування тазового болю, патологічних вагінальних виділень тощо.

Вивчення фізіологічної ролі мікробіома – найважливіший напрямок як в акушерстві та гінекології, так і в інших галузях медицини.

Отже, вивчення особливостей мікробіоценозу піхви, флори каналу шийки матки та порожнини матки у жінок з хронічним ендометритом в анамнезі збільшить ефективність прегравідарної підготовки перед циклами ДРТ та сприятиме відновленню репродуктивного здоров'я у цієї групи пацієнток.

Мета дослідження: визначити профіль мікробіоти піхви, каналу шийки матки та ендометрія при хронічному ендометриті у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Було проведено проспективне дослідження та клініко-лабораторний аналіз мікробіоценозу піхви, каналу шийки матки та порожнини матки у жінок з хронічним ендометритом в анамнезі на базі МЦ ТОВ «Ісіда – IVF» за період 2020–2021 рр. Пацієнток було розподілено на дві групи:

- І група – 55 жінок репродуктивного віку з невдалими спробами ДРТ з хронічним ендометритом в анамнезі.
- Контрольна група – 40 жінок репродуктивного віку без порушення фертильності. З метою виявлення можливого збудника ХЕ і вивчення мікрофлори піхви та каналу шийки матки проводилося мікробіологічне обстеження жінок.

Обсяг досліджень:

- рН-метрія вагінальних виділень,
- оцінка мікробіоценозу піхви за даними мікроскопії мазка, пофарбованого за Грамом,

- дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР),
- культуральне дослідження вагінальних виділень,
- вивчення мікрофлори каналу шийки матки та біоптату ендометрія.

З метою виявлення анаеробної мікрофлори застосовували метод культивування мікроорганізмів за допомогою мікроанаеростата. При виявленні умовно-патогенних бактерій діагностичним титром вважали показники $>10^4$ КУО/мл, а для грибів $>10^3$ КУО/мл в досліджуваному матеріалі. Виявлення генома можливих збудників ХЕ проводили з використанням ПЛР Real-Time.

Жінки були обстежені на виявлення специфічних фрагментів дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) уреоплазм, мікоплазм, хламідій, гарднерелл, трихомонад, цитомегаловірусу, вірусу простого герпесу другого типу (ВПГ2). Мікробіологічне дослідження біоптатів ендометрія проводили з використанням культуральних методів з метою виділення факультативно-анаеробних бактерій, мікоплазм, уреоплазм та хламідій. Для виявлення хламідій, крім культуральних, застосовували методи прямої імуофлюоресценції та ПЛР.

Оброблення даних проводили з використанням програмного пакета StatSoft Statistica 8.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати комплексного дослідження вагінальної мікрофлори продемонстрували (табл. 1), що нормобіоценоз був у кожній п'ятій пацієнтки І групи (21,8%) і у більшій половині жінок групи контролю (75,0%) ($p<0,05$).

Дефіцит лактофлори мали пацієнтки всіх груп без значних статистичних відмінностей (10,9% і 10,0% відповідно) ($p>0,05$). Превалювання умовно-патогенної мікрофлори з вираженими персистентними характеристиками та реалізацією в бактеріальний вагіноз зафіксовано у половині пацієнток І групи (38,2% і 29,1%) і значно рідше в групі контролю (5,0% і 12,5%) ($p<0,05$). Епізоди кольпіту та ендocerвіциту спостерігались у пацієнток І групи достовірно частіше (52,0%, $p<0,05$), ніж у групі контролю – 7,5% ($p<0,05$).

Підтвердженням елімінації лактобактерій або різкого зниження їхньої кількості та захисної функції мікрофлори піхви виступала рН-метрія вагінальних виділень: відхилення значень від нормативних показників (рН 4,5–5,0) відзначено у переважній більшості пацієнток І груп з ХЕ – 78,2% та у кожній третій жінки групи контролю – 30,0% ($p>0,05$).

Комплексне мікробіологічне дослідження виділень каналу шийки матки у пацієнток обох груп складалося з мікроскопічного, культурального досліджень і оцінки

Таблиця 1

Мікрофлора вагінальних виділень в обстежених жінок (абс.ч., %)

Показник	Групи дослідження		Статистична значимість відмінностей
	І група, n=55	Контрольна група, n=40	
Нормобіоценоз	12 (21,8%)	30 (75,0%)	$p<0,05$
Дефіцит лактобактерій	6 (10,9%)	4 (10,0%)	$p>0,05$
Умовно-патогенна мікрофлора	21 (38,2%)	2 (5,0%)	$p<0,05$
Бактеріальний вагіноз	16 (29,1%)	5 (12,5%)	$p<0,05$
Кольпіти, ендocerвіцити	26 (52,0%)	3 (7,5%)	$p<0,05$

Примітка: $p<0,05$ – значимість відмінностей між І та контрольною групами.

видового складу збудників за допомогою ПЛР-тесту. У табл. 2 і 3 представлені результати мікроскопічної оцінки секрету каналу шийки матки, сумарної частоти виділення мікроорганізмів, якісний і кількісний склад мікрофлори каналу шийки матки.

Отже, у 34 (61,8%) жінок I групи з безпліддям на тлі ХЕ в анамнезі виявлена виражена лейкоцитарна реакція. Це достовірно відрізняється від аналогічних показників жінок КГ, у яких в 4 (10,0%) спостереженнях кількість лейкоцитів була до 10 в полі зору ($p < 0,01$).

Культуральне дослідження виділень каналу шийки матки засвідчило, що в усіх зразках матеріалу у жінок КГ ріст мікрофлори не виявлений. У пацієнток I групи при культуральному дослідженні діагностовано зростання умовно-патогенної мікрофлори факультативно-анаеробного походження у всіх спостереженнях. З них у 10 (18,8%) пацієнток мікрофлора каналу шийки матки представлена монокультурами *Streptococcus* gr.B, у 13 (23,6%) – *Enterococcus faecalis*, у 14 (25,5%) – у складі асоціацій умовно-патогенних мікроорганізмів.

Дані ПЛР-тесту при вивченні видового складу мікроорганізмів каналу шийки матки (табл. 4), свідчать про високу частоту виявлення у пацієнток I групи з ХЕ в анамнезі, асоційованих з ІПСШ порівняно з результатами пацієнток КГ. Реєстрація *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* становила 15 (27,3%) та 4 (7,3%) спостережень відповідно, що не виявлялось у пацієнток КГ. Частота інфікування *Ureaplasma urealyticum* та *Mycoplasma genitalium* в каналі шийки матки за результатами ПЛР-тесту перевищувала рівень діагностики у пацієнток контрольної групи: 18,1% та 23,6% проти 5,0% та 2,5% відповідно ($p < 0,01$). Частота реєстрації *Herpes simplex virus* I, II у жінок обох груп не відрізнялася ($p > 0,05$).

При проведенні культурального дослідження вмісту порожнини матки (табл. 5), в 41 (74,5%) спостереженні було виявлено, що превалює персистуюча урогенітальна інфекція. Вона була представлена різними поєднаннями умовно-патогенних та патогенних збудників. З них у 18 (32,6%) пацієнток – комбінація різних видів умов-

Таблиця 2

Мікрофлора каналу шийки матки в обстежених жінок (абс.ч., %)

Мікроскопічне дослідження	Контрольна група, n=40		I група, n=55		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Лейкоцити до 10 в п/зр	36	90,0	21	38,2	<0,001
Лейкоцити >25 в п/зр	4	10,0	34	61,8	<0,01

Примітка: $p < 0,01$; $p < 0,001$ – значимість відмінностей між I та контрольною групами.

Таблиця 3

Мікрофлора каналу шийки матки у жінок I групи (абс.ч., %)

Вид мікроорганізмів	I група, n=55	
	Абс. число	%
<i>Streptococcus</i> gr. B	10	18,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	13	23,6
<i>Streptococcus</i> gr. B + <i>Enterococcus faecalis</i>	14	25,5
<i>Prevotella melaninogenica</i>	18	32,7
<i>Peptostreptococcus</i> sp.+ <i>Prevotella melaninogenica</i>	21	38,2

Перинатологія та репродуктологія: від наукових досліджень до практики | **Perinatology and reproductology:** from research to practice

но-патогенної мікрофлори; у 19 (19,8%) – виявлено зростання монокультур умовно-патогенних мікроорганізмів в титрах 10^6 - 10^8 КУО, у 4 (7,3%) спостереженнях виявлено зростання монокультури, представленої *Streptococcus* гр. В, у 7 (12,7%) – *Enterococcus faecalis*. Необхідно відзначити, що в порожнині матки облігатні анаероби зустрічались тільки в складі асоціацій.

При проведенні комплексного мікробіологічного дослідження вмісту порожнини матки у пацієнток І групи виявлена мікрофлора бактеріального походження. Водночас у цій самій категорії пацієнток при проведенні культурального аналізу в бактеріальному посіві зазначалося домінування представників умовно-патогенної мікрофлори, які в титрах перевищують 10^6 КУО/мл.

Аналіз ПЛР-тесту дозволив виявити у 23 (23,9%) пацієнток І групи асоціації різних видів вірусів з міко- та уреоплазмами, хламідіями (табл. 6).

Таблиця 4
ПЛР-тест секрету каналу шийки матки в обстежених жінок (абс.ч., %)

Мікрофлора	Контрольна група, n=40		І група, n=55		Р
	Абс. число	%	Абс. число	%	
<i>Trichomonas vaginalis</i>	-	-	4	7,3	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	-	15	27,3	-
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2	5,0	10	18,1	<0,01
<i>Mycoplasma genitalium</i>	1	2,5	13	23,6	<0,01
<i>Herpes simplex virus I, II</i>	2	5,0	5	9,1	>0,05

Примітка: $p < 0,01$; $p < 0,001$ – значимість відмінностей між І та контрольною групами.

Таблиця 5
Мікрофлора порожнини матки у жінок І групи (абс.ч., %)

Види мікроорганізмів	І група, n=55	
	Абс. число	%
<i>Streptococcus</i> гр. В	4	7,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	12,7
<i>Streptococcus</i> гр. В + <i>Enterococcus faecalis</i>	8	14,5
<i>Prevotella melaninogenica</i>	12	21,8
<i>Peptostreptococcus</i> sp. + <i>Prevotella melaninogenica</i>	10	18,1

Таблиця 6
ПЛР-тест із порожнини матки у жінок І групи (абс.ч., %)

Види мікроорганізмів	І група, n=55	
	Абс. число	%
<i>Trichomonas vaginalis</i>	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	6	10,9
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	9	16,4
<i>Mycoplasma genitalium</i>	5	9,1
<i>Herpes simplex virus I, II</i>	4	7,3

За даними ПЛР-діагностики, у I групі відзначене значне виявлення у пацієнток I групи *Chlamydia trachomatis* – у кожної дев'ятої (10,9%), а *U. urealyticum* (>10⁶ КУО/мл) – у кожної шостої (16,4%), *Mycoplasma genitalium* була у 23,6% жінок з ХЕ. Мікробні асоціації превалювали у I групі.

Інфікованість ендометрія значно відрізняється від мікробних контамінацій, виявлених в каналі шийки матки. Для всіх мікробних агентів, а саме: *C. trachomatis*, *U. urealyticum*, *Herpes simplex virus I, II* – відзначається тенденція зменшення контамінації ендометрія у два рази порівняно з інфікованістю каналу шийки матки.

ВИСНОВКИ

Отже, характерною особливістю вагінальної флори при хронічному ендометриті є високий рівень дисбіотичних змін, що поєднується з високими показниками обсіменіння умовно-патогенною флорою. Мікробіотиопи каналу шийки матки та ендометрія при запальних процесах ендометрія характеризуються переважанням облигатно-анаеробних мікроорганізмів у вигляді асоціацій з вірусною інфекцією і значно частіше, більш ніж у 2 рази, виявляються в ендоцервіксі порівняно з ендометрієм.

При подальшому дослідженні ідентифікація збудників корелювала з морфологічними ознаками запального процесу ендометрія, що, безумовно, є несприятливим фактором для настання і виношування вагітності та вимагає проведення лікувальних заходів у цих жінок у прегравідарний період.

Микробиоти влагалища, канала шийки матки і полости матки при хроническом эндометрите А.Д. Гайдук

Цель исследования: определить профиль микробиоты влагалища, канала шейки матки и полости матки при хроническом эндометрите у пациенток с неудачными попытками вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в анамнезе.

Материалы и методы. Проведено проспективное исследование и клинико-лабораторный анализ микробиоценоза влагалища, канала шейки матки и полости матки у женщин с хроническим эндометритом в анамнезе на базе МЦ ООО «ISIDA - IVF» в период с 2020 по 2021 гг. В I группу вошли 55 женщин репродуктивного возраста с хроническим эндометритом и повторными неудачными попытками ВРТ. В контрольную группу включены 40 женщин репродуктивного возраста без нарушения фертильности.

Объем исследований: рН-метрия вагинальных выделений, оценка микробиоценоза влагалища по данным микроскопии мазка, окрашенного по Граму, исследования методом полимеразной цепной реакции, культуральное исследование влагалищных выделений, изучение микрофлоры канала шейки матки и биоптата эндометрия.

Результаты. У женщин с бесплодием на фоне хронического эндометрита в анамнезе в результате бактериального посева из полости матки выявлено преобладание смешанной бактериальной флоры, которая представлена различными ассоциациями условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Хронический воспалительный процесс эндометрия обусловлен персистирующей вирусно-бактериальной инфекцией в полости матки, которая отличается видовым составом от микрофлоры нижних отделов генитального тракта.

Заключение. Характерной особенностью влагалищной флоры при хроническом эндометрите является высокий уровень дисбиотических изменений, сочетающийся с высокими значениями обсемененности условно-патогенной флорой. Микробиотопы канала шейки

матки и эндометрия при воспалительных процессах эндометрия характеризуются преобладанием облигатно-анаэробных микроорганизмов в виде ассоциаций с вирусной инфекцией и значительно чаще, более чем в 2 раза, выявляются в эндоцервиксе по сравнению с эндометрием.

Ключевые слова: микробиота, вспомогательные репродуктивные технологии, хронический эндометрит.

Microbiotes of the vagina, cervical canal and uterine cavity in chronic endometritis

A.D. Haiduk

The objective: to determine the profile of vaginal, cervical and uterine microbiota in chronic endometritis in patients with failed ART attempts in history.

Materials and method. A prospective study and clinical laboratory analysis of vaginal microbiocenosis, cervical canal and uterine cavity in women with chronic endometrite in a history on the basis of MC LLC «ISIDA - IVF», in the period from 2020 to 2021 was carried out. The group consisted of 55 women of reproductive age with chronic endometritis and repeated failed ART attempts, and 40 women of reproductive age without fertility impairment who formed the control group. Amount of research – Vaginal Secretion PH, Vaginal Microbial Estimation of Pap Smear Microscopy, Polymerase Chain Reaction Study (PCR), Culture Study of Vaginal Secretions, Study of microflora of the cervical channel and bioplat of endometrium.

Results. In women with infertility, against the background of chronic endometritis in history, as a result of bacterial sowing from the uterine cavity, the predominance of mixed bacterial flora, which is represented by various associations of opportunistic and pathogenic micro-organisms, has been detected. Chronic inflammatory endometry is caused by a persistent viral bacterial infection in the uterine cavity, which differs in species composition from the microflora of the lower genital tract.

Conclusions. The characteristic feature of the vaginal flora in chronic endometritis is a high level of dissbiotic changes, combined with high values of the notional pathogenic flora. The microbiotopes of the cervical channel and endometrium in the inflammatory processes of endometry are characterized by the predominance of obligatory-anaerobic micro-organisms in the form of associations with viral infection much more than twice as frequently detected in endocervix as compared to endometrium.

Keywords: microbiota, assisted reproductive technologies, chronic endometritis.

Інформація про автора

Гайдук Анастасія Дмитрівна – Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9; тел.: (050) 978-51-66. E-mail: haiduk.anastasiia@gmail.com

ORCID: № 0000-0002-7242-2494

Информация об авторе

Гайдук Анастасия Дмитриевна – Национальный университет здравоохранения Украины имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9, тел.: (050) 978-5166. E-mail: haiduk.anastasiia@gmail.com

ORCID: № 0000-0002-7242-2494

Information about the author

Haiduk Anastasiia Dmytrivna – Shupyk National Healthcare University of Ukraine, 9 Dorohozhytska St., Kyiv, 04112, tel.: (050) 978-51-66. E-mail: haiduk.anastasiia@gmail.com

ORCID: № 0000-0002-7242-2494

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кобаидзе Е.Г. Индивидуализация лечебной тактики больных с хроническим эндометритом на основании комплексного изучения клинико-анамнестических, микробиологических, иммунологических и генетических факторов: Автореф. дис. ... д-ра мед наук. Волгоград, 2019. – 46 с.
2. Кобаидзе Е.Г. Особенности влагалищной и кишечной микрофлоры у больных с хроническим эндометритом в контексте исследования клеточного иммунитета. Российский вестник акушера-гинеколога. 2019;19(1):80–5. <https://doi.org/10.17116/rosakush20191901180>.
3. Hillier S., Marrazzo J., Holmes K.K. Bacterial vaginosis. In: Sexually transmitted diseases. Eds. K.K. Holmes, P. F. Sparling, V. E. Stamm et al. 4th ed. New York: McGraw-Hill, 2008. 737–68.
4. Глобальная стратегия профилактики инфекций, передаваемых половым путем, и борьбы с ними. ВОЗ: Женева, 2006–2015. 70 с. Режим доступа: <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/9789241563475/ru/>. [Дата доступа: 10.06.2020].
5. Workowski K.A., Bolan G.A. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. MMWR Recomm Rep. 2015;64(RR-03):1–137.
6. Das B., Ronda J., Trent M. Pelvic inflammatory disease: improving awareness, prevention, and treatment. Infect Drug Resist. 2016;2016(9):191–7. <https://doi.org/10.2147/IDR.S91260>.
7. Moreno I., Codoner F.M., Vilella F. et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. Am J Obstet Gynecol. 2016;215(6):684–703. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.09.075>.
8. Franasiak J.M., Scott R. T. Introduction: microbiome in human reproduction. Fertil Steril. 2015;104(6):1341–3. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.10.021>.
9. Swidsinski A., Verstraelen H., Loening-Baucke V. et al. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patients with bacterial vaginosis. PLoS One. 2013;8(1):e53997. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053997>.
10. Onderdonk A.B., Delaney M. L., Fichorova R.N. The human microbiome during bacterial vaginosis. Clin Microbiol Rev. 2016;29(2):223–38. <https://doi.org/10.1128/CMR.00075-15>.
11. Verstraelen H., Vilchez-Vargas R., Desimpel F. et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the 16S rRNA gene. Peer J. 2015;4:e1602.