

**Специфика микрофлоры влагалища на ранних сроках
беременности у женщин с невынашиванием беременности.**

Юлдашева Фарангиз Исмаиловна

Самаркандский медицинский университет

Самарканд, Узбекистан

Аннотация: *Нарушенная микрофлора влагалища является фактором риска невынашивания беременности. Анализ микрофлоры влагалища во время беременности у женщин с выкидышем в анамнезе может способствовать пониманию важности определенной микрофлоры в развитии процессов, приводящих к самопроизвольному или преждевременному аборту.*

Ключевые слова: *микробиоценоз влагалища; невынашивание беременности; лактобациллы; аэробные бактерии; дисбиотические нарушения.*

Невынашивание беременности-одна из самых сложных проблем в акушерской практике. Частота этого осложнения беременности остается высокой и достигает 10-25% от всех беременностей. Генитальные инфекции являются одной из основных этиологий прерывания беременности на ранних сроках. На протяжении многих лет инфекции, передающиеся половым путем, играли важную роль в прерывании беременности на ранних сроках. В настоящее время в качестве этиологического фактора восходящих инфекций эндометрия у небеременных женщин выделяют антисанитарные условия влагалища с преобладанием условно-патогенной микрофлоры. Вклад инфекционных агентов в развитие различных нарушений беременности не одинаков. Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что роль инфекции в прерывании беременности на ранних сроках незначительна. В то же время внутриамниотические

инфекции являются причиной около 40-50% всех случаев преждевременных родов и 60-70% поздних самопроизвольных абортов. Это подтверждается частотой острого хориоамнионита при преждевременных родах (94% в 22-23 недели беременности, 40% в 29-33 недели, 35% в 24-28 недель, 11% в 33-36 недель и 4% в 37-40 недель). Микробиом влагалища представляет собой много компонентную экосистему с точки зрения видового состава, насчитывающую более 300 видов микроорганизмов. В среде влагалища здоровых женщин преобладают лактобациллы. Метагеномный анализ показал наличие в микробиоме влагалища около 20 видов лактобацилл: *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri* и *L. iners*. Нормальная микрофлора влагалища включает представителей условно-патогенной флоры *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, *Mobiluncus*, *Atopobium* spp., *Prevotella*, *Megasphaera*, *Dialister*, *Peptoniphilus*, *Sneathia*, *Eggerthella*, *Aerococcus* и представители рода *Finegoldia* могут присутствовать в небольших количествах. Флора влагалища женщин с физиологической беременностью стабильна и менее разнообразна. Изменения гормонального фона значительно увеличивают синтез гликогена в слизистой оболочке влагалища и усиливают рост лактобактерий. Среди представителей лактобацилл преобладают *L. crispatus* и *L. iners*. В то же время снижается количество условно-патогенных микроорганизмов, особенно как аэробных видов (например, *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. и *Enterococcus* spp.), так и анаэробной микрофлоры (например, *Bacteroides* spp. и *Peptostreptococcus* spp.). Снижение сексуальной активности во время беременности также способствует стабильности микрофлоры влагалища. При нарушении нормальной микрофлоры влагалища может развиваться бактериальный вагиноз и аэробный вагиноз.

Данные исследования G. Donders et al. (2009) свидетельствуют о повышенном риске ранних преждевременных родов в 6 раз и невынашивания беременности на ранних сроках в 2 раза при отсутствии

лактобацилл и наличии бактериального вагиноза и аэробного вагинита и, напротив, снижении риска преждевременных родов на 75% у женщин с нормальной микрофлорой влагалища в первом триместре беременности. Таким образом, необходимо исследование микрофлоры влагалища в первом триместре беременности для своевременного выявления дисбиотических нарушений и санации очага инфекции для снижения рисков прерывания беременности. Целью данного исследования было выявление особенностей микрофлоры влагалища в первом триместре у беременных женщин с невынашиванием в анамнезе. В исследование были включены женщины в возрасте 21–40 лет в первом триместре беременности.

Критерии включения: невынашивание беременности в анамнезе (самопроизвольные выкидыши ранних и поздних сроков, неразвивающаяся беременность, преждевременные роды).

Критерии исключения: сахарный диабет, хроническая почечная патология, множественная миома матки, рубец на матке, тяжелая хроническая патология дыхательной и сердечно-сосудистой системы, тяжелая патология печени, многоплодная беременность, хламидийная инфекция, применение антибактериальных препаратов в течение предшествующих четырех недель. Обследование включало рН-метрию вагинального отделяемого, лабораторные исследования вагинального отделяемого с применением микроскопического, культурального и молекулярно-биологического (количественная ПЦР в реальном времени) методов. Влагалищные выделения собирали из задней части влагалища с помощью двух стерильных тампонов и шпателя. Содержимое шпателей наносилось на два предметных стекла для микроскопического исследования, один мазок помещался в транспортную среду для бактериологического исследования, а содержимое второго мазка использовалось для молекулярно-биологического анализа. Значение рН вагинальных выделений измерялось с помощью индикаторных полосок

Kolpo-testp H, предназначенных для визуального и количественного определения кислотности вагинальной среды. Диапазон значений «Кольпо-тест рН» находится в пределах 3,0–7,0 рН. Цветная шкала на этикетке содержит серию цветовых полей, соответствующих значениям рН 3,0; 3,5; 3,7; 4,0; 4,2; 4,5; 4,8; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0. В основе метода определения рН влагалищной жидкости лежит химическая реакция определения ионов водорода в биологических жидкостях организма человека с помощью рН-индикаторов. В зависимости от значений рН влагалищной жидкости изменяется окраска рН-индикаторов. рН влагалищной жидкости измеряли путем нанесения вагинальной жидкости со стерильного шпателя жидкости на сенсорный элемент тест-полоски. Для микроскопического анализа клинический материал помещали на два предметных стекла и окрашивали 1 % раствором метиленового синего и по Граму. Оценивали отношение количества лейкоцитов к количеству эпителиальных клеток (в норме $\leq 1 : 1$), присутствие лактобацилл, других микроорганизмов, дрожжеподобных грибов, трихомонад, а также «ключевых клеток». Для бактериологического исследования клинический материал помещали в две чашки Петри с искусственной питательной средой (Oxoid, Великобритания), содержащей 5% крови ягненка. Одну чашку Петри инкубировали на воздухе при 37°C в течение 48 часов, другую - в CO₂-инкубаторе (5%CO₂) при 37°C в течение 48 часов. Среда Sublow Agar использовалась для выделения дрожжеподобных грибов Candida (инкубировались при 37°C в течение 48 часов), которые затем высевались на среду Sublow Agar. Выделенные микроорганизмы идентифицировали на масспектрометре Microflex (Bruker, Германия) при помощи базы данных Maldi Bio Typer RTC. Молекулярно-биологическое исследование микрофлоры влагалища проводили с использованием теста «Фемофлор-16» («ДНК-Технология», Москва). Тест основан на методе количественной ПЦР в режиме реального времени и позволяет определить количество ДНК искомого микроорганизма в образце, которое выражается в геномных эквивалентах

(ГЭ). Количество ГЭ пропорционально количеству клеток микроорганизма. С помощью теста определяют тотальную концентрацию бактериальной ДНК — общую бактериальную массу (ОБМ) — и концентрацию (абсолютную и относительную) следующих видов/родов микроорганизмов: *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Gardnerella vaginalis*/ *Prevotella*, *bivia*/*Porphyromonas*, *Eubacterium*, *Sneathia*/*Leptotrichia*/*Fusobacterium*, *Megasphaera*/ *Veillonella*/*Dialister*, *Lachnobacterium* spp./*Clostridium*, *Mobiluncus* spp./*Corynebacterium*, *Peptostreptococcus*, *Atopobium vaginae*. Кроме того, оценивали абсолютную концентрацию *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* и *Candida*. ПЦР-анализ осуществляли согласно инструкции производителя. Выявление и определение вида лактобацилл (*Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus vaginalis*) в отделяемом влагалища выполняли методом ПЦР в реальном времени с применением набора реагентов для исследовательских целей производства «ДНК-Технология» (Москва). Статистический анализ результатов проводили с использованием статистического пакета NCSS 12 (NCSS, LCC). Для непрерывных переменных данные представляли графически в виде диапазона и медианы с межквартильными интервалами, для анализа различий применяли U-критерий Манна – Уитни. Для категориальных переменных данные рассчитывали в виде частот, различия анализировали с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. Если при анализе таблиц сопряженности хотя бы в одной ячейке ожидаемое явление принимало значение от 5 до 9, критерий хи-квадрат рассчитывали с поправкой Йейтса. Если хотя бы в одной ячейке ожидаемое явление было ниже 5, то для анализа применяли точный критерий Фишера. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05 ($p < 0,05$). **Результаты** Всего в исследование было включено 160 женщин. В основную группу (группу 1) вошли 100 женщин с невынашиванием беременности в анамнезе.

Группу сравнения (группу 2) составили 60 женщин без невынашивания беременности в анамнезе. Возраст пациенток варьировал от 21 до 40 лет (средний возраст для обеих групп составил 29 лет (27–32,5 года)). Обследование проводили при сроке беременности от 5 до 12 недель (средний срок гестации для обеих групп составил 9 недель). Пациентки первой группы имели в анамнезе в среднем два случая невынашивания беременности. Наиболее часто отмечались случаи невынашивания беременности на раннем сроке (96%). Частота случаев позднего невынашивания — преждевременных родов и позднего выкидыша — была намного ниже (7 и 13 % соответственно). Превалирующее число потерь беременности наблюдалось при сроке 7-8 и 9-10 недель. В структуре гинекологических заболеваний хронический сальпингоофорит и наружный генитальный эндометриоз встречались только у женщин с невынашиванием беременности. У 11 % женщин первой группы было отмечено нарушение менструальной функции. Хронический эндометрит в анамнезе был зафиксирован только у женщин с невынашиванием беременности в 34% случаев. При этом различия между группами по частоте хронического эндометрита были статистически значимы. При анализе соматического анамнеза выявлены значимые различия между группами по частоте хронического тонзиллита, бронхита и заболеваний щитовидной железы, а именно гипотиреозу.

Результаты обследования женщин в первом триместре настоящей беременности. Значения рН вагинального отделяемого у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе были значительно выше, чем у женщин с неотягощенным акушерским анамнезом. У 62 (62 %) женщин с невынашиванием в анамнезе определялись значения $\text{pH} > 4,5$, в то время как в группе без невынашивания значения $\text{pH} > 4,5$ отмечались у 18 женщин (30%). При микроскопическом исследовании отделяемого влагалища наблюдали более высокую частоту воспалительной реакции (превалирование лейкоцитов над эпителиальными клетками)

и преобладание других видов микроорганизмов над лактобациллами в группе женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. При культуральном исследовании вагинального отделяемого в группе беременных женщин с невынашиванием в анамнезе было выявлено значительно более высокое количество нелактобациллярных видов микроорганизмов. При этом значительно чаще при культуральном исследовании встречались представители аэробной микрофлоры, а именно *Staphylococcus hominis*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*. С применением метода количественной ПЦР в реальном времени (тест «Фемофлор-16») было показано, что у женщин первой группы содержание лактобацилл было значимо выше, чем у женщин второй группы. Выраженный анаэробный дисбиоз определялся несколько чаще у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе в сравнении с женщинами без невынашивания. Выраженный аэробный дисбиоз был обнаружен только у женщин первой группы в 5% случаев, однако различия между группами не достигли статистической значимости. Определив частоту доминирования различных видов лактобацилл в лактобациллярной микрофлоре влагалища у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе и женщин без невынашивания, выявили преобладание четырех видов лактобацилл: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* и *L. gasseri*. С наибольшей частотой в обеих группах в качестве доминирующего вида обнаруживали *L. crispatus* и *L. iners*.

В результате анализа содержания микроорганизмов методом количественной ПЦР в реальном времени были установлены значительно более высокие показатели *Enterobacteriaceae*, стрептококков, стафилококков, дрожжеподобных грибов *Candida spp.* и *Ureaplasma spp.* в группе женщин с невынашиванием беременности в анамнезе.

Во время беременности повышение pH влагалища вместе с симптомами нарушений микробиоценоза может служить значимым

фактором для диагностики дисбиотических нарушений, в частности, бактериального вагиноза.

Таким образом, анализ микробиоты влагалища в первом триместре беременности у женщин с невынашиванием в анамнезе показал значимые особенности: 1) высокие значения рН вагинальной среды ($> 4,5$);

2) превалирование нелактобациллярной микрофлоры над лактобациллами;

3) преобладание в два раза аэробных бактерий (энтеробактерий, стрептококков, стафилококков);

4) высокое содержание уреазы и дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

Полученные данные свидетельствуют о дисбиотических изменениях микробиоты влагалища в первом триместре у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. Эти факторы могут являться причиной самопроизвольного прерывания беременности на поздних сроках, поэтому необходимо проведение динамического диагностического мониторинга микробиоты влагалища во время беременности в группах риска по невынашиванию беременности со своевременным лечением обнаруженных дисбиозов.

Литература

1. Garland SM, Ní Chuileannáin F, Satzke C, Robins-Browne R. Mechanisms, organisms and markers of infection in pregnancy. *J Reprod Immunol.* 2002;57(1-2):169-183. doi: 10.1016/s0165-0378(02)00018-9.
2. Берлев И.В., Кира Е.Ф. Роль условно-патогенной микрофлоры в развитии невынашивания беременности у женщин с нарушением микробиоценоза влагалища // Журнал акушерства и женских болезней. — 2002. — Т. 51. — № 1. — С. 33–37.
3. Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, et al. Characterisation of the vaginal *Lactobacillus* microbiota associated with preterm delivery. *Sci Rep.* 2014;4(1). doi: 10.1038/srep05136.

4. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. — М.: Триада-Х, 2005. [Sidel'nikova VM. Privychnaya poterya beremennosti. Moscow: Triada-Kh; 2005.
5. Farxotovna S. Z. et al. Irsiy Kasalliklarning Genetik Asoslari: Patofiziologiyaga Oid Tushunchalar //AMALIY VA TIBBIYOT FANLARI ILMIIY JURNALI. – 2023. – Т. 2. – №. 11. – С. 221-224.
6. Utkurovna S. G., Farkhodovna S. Z., Furkatjonovna B. P. Optimization of the treatment of acute rhinosinusitis in children. – 2022.
7. Safoeva Z., Samieva G. Treatment of children with acute stenosing laryngotracheitis in conditions of prolonged tracheal intubation //Евразийский журнал медицинских и естественных наук. – 2022. – Т. 2. – №. 6. – С. 185-190.
8. Safoyeva Z. F., Samiyeva G. U. CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL FEATURES AND THERAPY OPTIONS FOR RECURRENT LARYNGOTRACHEITIS IN CHILDREN //Theoretical aspects in the formation of pedagogical sciences. – 2022. – Т. 1. – №. 4. – С. 105-106.
9. Safoyeva Z. F., Samiyeva G. U. RESPIRATORY TRACT MICROBIOCENOSIS DISORDERS IN CHILDREN WITH ACUTE STENOTIC LARYNGOTRACHEITIS //Академические исследования в современной науке. – 2022. – Т. 1. – №. 15. – С. 43-44.
10. Safoeva Z. F., Samieva G. U. ENDOGENOUS INTOXICATION SYNDROME IN CHILDREN AND ITS EFFECT ON THE CLINICAL COURSE OF VARIOUS FORMS OF LARYNGOTRACHEITIS //Materials of International Scientific-Practical Conference. – 2022. – С. 25.
11. Giakoumelou S, Wheelhouse N, Cuschieri K, et al. The role of infection in miscarriage. Hum Reprod Update. 2016;22(1):116-133. doi: 10.1093/humupd/dmv041.
12. McClure EM, Goldenberg RL. Infection and stillbirth. Semin Fetal Neonatal Med. 2009;14(4):182-189. doi: 10.1016/j. siny.2009.02.003.

13. Mendz GL, Kaakoush NO, Quinlivan JA. Bacterial aetiological agents of intra-amniotic infections and preterm birth in pregnant women. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3:58. doi: 10.3389/fcimb.2013.00058.
14. Yuldasheva F. I. Features and algorithm of treatment of bacterial vaginitis // *Science and Education.* – 2023. – T. 4. – №. 2. – C. 223-228.
15. Yuldosheva D. T., Farangiz M. FEATURES OF THE SPEECH DEVELOPMENT OF CHILDREN WITH LAGGING PSYCHIC DEVELOPMENT AND THE MAIN DIRECTIONS OF SPEECH CORRECTION // *Open Access Repository.* – 2023. – T. 9. – №. 12. – C. 391-396.
16. Ismatiloevna Y. F. TREATMENT OF VAGINAL DYSBIOTIC DISORDERS IN PREGNANT WOMEN BEFORE CHILDBIRTH // *World Bulletin of Public Health.* – 2022. – T. 12. – C. 86-89.