

УДК 618.3:618.15

Ю. Ю. Нікуліна¹, І. Є. Соколова², А. І. Вінніков²

¹Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І. І. Мечникова
²Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ІМУНОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ВАГІТНИХ ІЗ ДИСБІОТИЧНИМИ ПОРУШЕННЯМИ

Досліджено біологічні властивості збудників вагінозу у вагітних жінок, виділених у 255 пацієнток відділення патології вагітних Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова. Досліджена мікрофлора представлена грибами роду *Candida*, *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii*, *Chlamidia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* і *Leptotrix vaginalis*. За частотою виявлення найпоширенішим збудником вагінозу вагітних жінок є гриби роду *Candida*. За наявності у вагінальних мазках вагітних грибів роду *Candida*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamidia trachomatis* і *Toxoplasma gondii* спостерігаються значні зміни клітинних показників імунітету та висока концентрація циркулюючих імунних комплексів.

Ю. Ю. Никулина¹, И. Е. Соколова², А. И. Винников²

¹Днепропетровская областная клиническая больница им. И. И. Мечникова
²Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У БЕРЕМЕННЫХ С ДИСБИОТИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ

Исследованы биологические свойства возбудителей вагиноза у беременных женщин, выделенных у 255 пациенток отделения патологии беременных Днепропетровской областной клинической больницы им. И. И. Мечникова. Исследованная микрофлора представлена грибами рода *Candida*, *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii*, *Chlamidia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* и *Leptotrix vaginalis*. По частоте выявления самым распространенным возбудителем вагиноза беременных женщин являются грибы рода *Candida*. При наличии в вагинальных мазках беременных грибов рода *Candida*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamidia trachomatis* и *Toxoplasma gondii* наблюдается значительное изменение клеточных показателей иммунитета и высокая концентрация циркулирующих иммунных комплексов.

Y. Y. Nikulina¹, I. E. Sokolova², A. I. Vinnikov²

¹I. I. Mechnikov Dnipropetrovsk Region Clinical Hospital
²Oles Honchar Dnipropetrovsk National University

IMMUNOLOGICAL CHANGES IN PREGNANT WOMEN WITH DYSBIOTIC DISTURBANCES

The biological properties of the vaginosis pathogens isolated from 255 pregnant patients of the Pregnancy Pathology Department of the Mechnikov Dnipropetrovsk Region Clinical Hospital were studied. It was found that all investigated microflora was represented by the *Candida* yeasts, *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii*, *Chlamidia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* and *Leptotrix vaginalis*. The yeasts of genus *Candida* were the most common isolated pathogens of the vaginosis in pregnant women. The presence of *Candida* sp., *Trichomonas vaginalis*, *Chlamidia trachomatis* and *Toxoplasma gondii* in the vaginal smears

taken from pregnant women was accompanied by changes of the immunity cell parameters and concentration of circulating immune complexes.

Вступ

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я за 2010 рік, поширеність вагінозу серед вагітних жінок становить 20–25 %. Є виражений взаємозв'язок між наявністю вагінозу та передчасним перериванням вагітності, фетоплацентарною недостатністю, хоріоамніонітом, невчасним розривом навколоплідних оболонок і патологією розвитку плода через висхідну інфекцію. Причому ризик розвитку цих ускладнень у пацієток із вагінозом у 2,5 раза більший, ніж у здорових вагітних [1].

Вагіноз розглядають як стан дисбіозу піхви, зумовлений імунологічними порушеннями, гормональними змінами та нераціональною антибіотикотерапією. У його основі лежить порушення мікробіоценозу піхви, посилене зростання аеробної та анаеробної мікрофлори, яка заміщає лактобацилярну мікрофлору [9]. Це викликає різке зниження кількості лактобацил, які в нормі забезпечують пригнічення росту багатьох хвороботворних мікроорганізмів. Найчастіші етіологічні фактори вагінозу у вагітних жінок – гриби роду *Candida*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamidia trachomatis*, *Toxoplasma gondii*, *Gardnerella vaginalis* та *Leptotrix vaginalis* [10; 11].

Актуальність проблеми вагінозу вагітних жінок у наш час визначається декількома аспектами. Висока частота захворювання серед вагітних – фактор підвищення ризику ускладнень під час вагітності. Недостатньо виражена клінічна картина захворювання ускладнює його своєчасну діагностику [6; 12].

У зв'язку з цим мета цієї роботи – ідентифікація найпоширеніших збудників вагінозу, виділених із патологічного матеріалу 255 пацієток відділення патології вагітних Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова, визначення особливостей зміни клітинних і гуморальних показників імунітету за наявності різних збудників.

Матеріал і методи досліджень

Для виділення та ідентифікації збудників вагінозу у пацієток відділення патології вагітних Дніпропетровської обласної лікарні ім. І. І. Мечникова згідно з Наказом МОЗ від 22.04.1985 р. № 535 [7] здійснювали мікроскопію мазків із піхви, забарвлених за Грамом і Романовським – Гімзою. Робили посів змивів із піхви та цервікального каналу на диференційно-діагностичні середовища [2]. Крім мікроскопічних методів, антигени *Trichomonas vaginalis*, *Chlamidia trachomatis* та *Toxoplasma gondii* визначали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Також застосовували імуноферментний аналіз [9], в основі якого лежить взаємодія антигену збудника на поверхні лунок полістиролових планшетів з IgM та IgG у сироватках вагітних жінок [4; 5]. Для оцінки імунного статусу вагітних визначали кількість лімфоцитів, які експресували на своїй поверхні CD₃, CD₄, CD₈, CD₁₆, CD₂₂, концентрацію загальних IgG, IgM, IgA. Для оцінки фагоцитарної активності нейтрофілів периферичної крові визначали фагоцитарну активність, фагоцитарний індекс і фагоцитарне число [3; 8].

Результати та їх обговорення

Мікробіологічне та мікроскопічне дослідження матеріалу, відібраного у 255 вагітних жінок із діагнозом вагіноз, проведене на базі бактеріологічної та клініко-діагностичної лабораторій Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова (табл. 1). Від 159 пацієток виділено гриби роду *Candida*, які на середовищі Сабуро утворювали круглі, з рівними краями, білувато-кремові, блискучі гладенькі колонії.

Перед посівом на це середовище до нього додавали пеніцилін і стрептоміцин для пригнічення росту супутньої бактеріальної флори.

Діагностика *Gardnerella vaginalis*, яка була діагностована у 36 пацієнток, ґрунтувалася на виявленні у вагінальних мазках «ключових клітин», які є епітеліоцитами з адгезованими на них дрібними грамваріабельними паличками, що покривають усю клітину. У складних випадках для ідентифікації гарднерел застосовували полімеразну ланцюгову реакцію.

Leptotrix vaginalis виявили у 21 пацієнтки при мікроскопічному дослідженні мазків. При цьому характерною особливістю їх морфології при мікроскопії є чергування темних і світлих ділянок.

Trichomonas vaginalis ідентифікували у 17 вагітних, виявляли при вивченні як нативних, так і забарвлених препаратів. У нативному препараті *T. vaginalis* має грушоподібну, заокруглену форму. На середовищі, яке містило гідролізат казеїну, трихомонади давали придонний ріст з утворенням компактного білого осаду. Взятий пастерівською піпеткою осад досліджували мікроскопічно у препараті роздавленої краплі. Трихомонади у полі зору розміщувались поодинокі або великими скупченнями та активно рухались.

Хламідії виявлено у 7 пацієнток (2,75 % обстежених вагітних). Для їх ідентифікації з інфекційного матеріалу робили мазок із клітин циліндричного епітелію піхви, фіксували його, забарвлювали за Романовським – Гімзою, мікроскопували. При цьому ретикулярні тільця забарвлювалися в синьо-фіолетовий колір, а елементарні тільця – у рожево-червоний. Специфічні антигени *Chlamidia trachomatis* в інфекційному матеріалі виявляли за допомогою ІФА.

Таблиця 1

**Збудники дисбіозу піхви у вагітних жінок –
пацієнток Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова**

Збудник	Кількість випадків виявлення збудників	
	абсолютна	%
Гриби роду <i>Candida</i>	159	62,4
<i>Trichomonas vaginalis</i>	17	6,7
<i>Toxoplasma gondii</i>	15	5,8
<i>Chlamidia trachomatis</i>	7	2,8
<i>Gardnerella vaginalis</i>	36	14,1
<i>Leptotrix vaginalis</i>	21	8,2
Разом	255	100,0

Для детального вивчення специфічної клітинної імунної відповіді досліджено кількість лімфоцитів, їх субпопуляційний склад у периферичній крові (табл. 2). У вагітних із кандидозним вагінозом відмічається пригнічення клітинної складової імунної відповіді. Підтвердження цього – зменшення кількості Т-хелперів (CD₄) і зростання кількості В-лімфоцитів (CD₂₂). Значне зниження імунорегуляторного індексу (до 0,65) свідчить про розвиток у них імуносупресії, що сприяє збереженню плода та виживанню грибів. У вагітних, у яких виявлено у мазку з піхви значну кількість гарднерел, відмічається зниження загальної кількості лейкоцитів, підвищення загальної кількості лімфоцитів до верхньої межі норми.

Дослідження стану Т-системи імунітету дало можливість установити, що у пацієнток, інфікованих гарднерелою, у середньому кількість загальних Т-лімфоцитів (CD₃) перебувала у межах норми, як в абсолютних числах ($1,48 \times 10^9/\text{л}$), так і за процентним співвідношенням – 70 % (табл. 2). Весь спектр Т-лімфоцитів вказує, що

кількість Т-хелперів (CD₄) у відносних кількостях підвищена. Це може бути пов'язано з напруженням Т-системи імунітету та Т-хелперною імунною відповіддю на початку захворювання. У процесі захворювання, як показали додаткові дослідження, імунітет вагітних жінок пригнічувався. У вагітних, хворих на гарднерельоз, має місце тенденція до зниження кількості Т-супресорів (CD₈). При цьому зниження кількості Т-супресорів і порушення супресорної функції Т-лімфоцитів сприяє сенсibiliзації організму, появи та накопиченню імунних комплексів, які циркулюють у крові, що може спричинити розвиток аутоімунних захворювань. При дослідженні вмісту натуральних кілерів (CD₁₆) у пацієнток із гарднерельозом виявлене підвищення їх абсолютної кількості порівняно з нормою, відносна кількість близька до верхньої межі норми.

Таблиця 2

Відносна кількість лімфоцитів різних субпопуляцій у периферичній крові вагітних із дисбіозом піхви

Етіологічний фактор дисбіозу	Абсолютна кількість клітин, $\cdot 10^9/\text{л}$ %					Імуноре-гулятор-ний індекс, $\frac{\text{CD}_4}{\text{CD}_8}$
	CD ₃	CD ₄	CD ₈	CD ₁₆	CD ₂₂	
Норма (еубіоз)	<u>1,1–1,7</u> 67–76	<u>0,7–1,1</u> 33–46	<u>0,4–0,8</u> 18–28	<u>0,2–0,4</u> 12–23	<u>0,2–0,4</u> 17–23	
<i>Candida spp.</i>	<u>1,20 ± 0,32</u> 32 ± 1,95	<u>0,86 ± 0,04</u> 23 ± 2,32	<u>1,30 ± 0,15</u> 35 ± 1,42	<u>1,20 ± 0,06</u> 32 ± 1,33	<u>1,35 ± 0,04</u> 36 ± 0,38	0,65 ± 0,03
<i>Trichomonas vaginalis</i>	<u>2,40 ± 0,44</u> 82 ± 2,10	<u>1,47 ± 0,07</u> 50 ± 2,87	<u>1,17 ± 0,19</u> 40 ± 1,51	<u>0,79 ± 0,05</u> 27 ± 1,23	<u>0,63 ± 0,02</u> 23 ± 0,26	1,20 ± 0,02
<i>Chlamidia trachomatis</i>	<u>1,82 ± 0,38</u> 78 ± 2,60	<u>1,15 ± 0,03</u> 54 ± 3,60	<u>0,63 ± 0,07</u> 27 ± 1,10	<u>0,52 ± 0,03</u> 22 ± 1,12	<u>0,51 ± 0,02</u> 22 ± 0,24	1,82 ± 0,09
<i>Toxoplasma gondii</i>	<u>1,90 ± 0,41</u> 52 ± 2,0	<u>0,96 ± 0,02</u> 24 ± 2,21	<u>1,00 ± 0,12</u> 26 ± 1,32	<u>1,60 ± 0,08</u> 42 ± 2,29	<u>1,45 ± 0,05</u> 36 ± 0,41	0,92 ± 0,05
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<u>1,48 ± 0,48</u> 70 ± 2,25	<u>1,00 ± 0,02</u> 47 ± 3,1	<u>0,48 ± 0,04</u> 23 ± 0,9	<u>0,48 ± 0,03</u> 18 ± 0,94	<u>0,40 ± 0,02</u> 19 ± 0,21	1,87 ± 0,10
<i>Leptothrix vaginalis</i>	<u>1,10 ± 0,29</u> 68 ± 2,43	<u>0,79 ± 0,02</u> 48 ± 2,45	<u>0,66 ± 0,06</u> 40 ± 1,73	<u>0,30 ± 0,02</u> 17 ± 0,92	<u>0,25 ± 0,01</u> 15 ± 0,18	1,20 ± 0,02

Дослідження В-ланки імунітету при гарднерельозі виявило, що відносна кількість В-лімфоцитів (CD₂₂) збільшена порівняно з нормою, а їх абсолютна кількість відповідає верхній межі норми. Збільшення кількості В-лімфоцитів – наслідок антигенної стимуляції з боку гарднерел і добре корелює зі збільшенням концентрації IgM (табл. 3) порівняно з нормою.

У вагітних жінок з урогенітальним хламідіозом спостерігалось підвищення абсолютного та відносного вмісту Т-лімфоцитів (CD₃) до $1,82 \times 10^9/\text{л}$ та 78,4 %, відповідно. Збільшення цих показників свідчить про активацію клітинного та гуморального імунітету. Також була підвищеною абсолютна та відносна кількість Т-хелперів (CD₄). Це вказувало на те, що вони чинять стимулювальну дію, у тому числі і на В-лімфоцити (CD₂₂). Кількість В-лімфоцитів у вагітних із підтвердженим урогенітальним хламідіозом підвищена до 22,2 % та абсолютної кількості $0,51 \times 10^9/\text{л}$. Абсолютна більшість Т-супресорів (CD₈) відповідала нормі, а їх відносна кількість була дещо зниженою. Імунорегуляторний індекс (ІІ) відповідав нормальному значенню. Також спостерігалось підвищення відносної та абсолютної кількості натуральних кілерів (CD₁₆) до 22,5 та $0,52 \times 10^9/\text{л}$, відповідно. Це свідчить, що хламідіоз у більшості обстежених вагітних перебігає у гострій фазі.

Зменшення рівня IgG на фоні зростання вмісту IgA у сироватці крові вагітних із вагінальним кандидозом може свідчити про стимуляцію імунної відповіді, яка відбувається за тимуснезалежним механізмом антигенами I класу. Про це свідчить зниження відносної кількості CD₄ клітин на фоні підвищення показників гуморальної ланки імунітету. Також у цих хворих спостерігається підвищення показників концентрації комплементу та ЦК. Високі концентрації ЦК при неефективній роботі фагоцитів можуть спричинити патологічно значиме відкладання імунних комплексів.

Таблиця 3

Гуморальні показники імунітету вагітних із дисбіозом піхви – пацієнток Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова

Етіологічний фактор дисбіозу	Концентрація імуноглобулінів у сироватці крові, г/л			Комплемент, CH ₅₀ *	ЦК, одиниць оптичної щільності, 10 ⁻³
	IgA	IgM	IgG		
Норма (еубіоз)	1,9–4,2	0,61–1,42	6,0–14,0	40–60	< 100
<i>Candida spp.</i>	2,20 ± 0,100	4,10 ± 0,187	18,7 ± 1,80	73,9 ± 3,85	105,0 ± 2,40
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1,62 ± 0,075	1,04 ± 0,046	11,1 ± 1,54	54,2 ± 2,57	40,2 ± 0,96
<i>Leptothrix vaginalis</i>	3,90 ± 0,167	2,00 ± 0,096	13,8 ± 1,61	33,9 ± 1,88	25,4 ± 0,57
<i>Trichomonas vaginalis</i>	2,80 ± 0,134	1,35 ± 0,062	19,4 ± 1,92	85,5 ± 4,22	160,9 ± 3,66
<i>Chlamidia trachomatis</i>	0,85 ± 0,038	3,00 ± 0,131	5,7 ± 0,74	30,9 ± 1,89	200,5 ± 4,57
<i>Toxoplasma gondii</i>	3,05 ± 0,135	0,80 ± 0,038	11,1 ± 1,57	53,9 ± 2,70	130,7 ± 2,97

Примітка: * – гемолітична одиниця комплементу, яка відповідає такій його кількості, що викликає гемоліз 50 % еритроцитів у 1 мл гемолітичної системи при +37 °C за 1 годину.

При хламідіозі спостерігається зниження показників IgG і IgA до 0,85 і 5,70 г/л, відповідно. Разом із цим, показник IgM значно підвищений (до 3,0 г/л), що свідчить про наявність хламідіозу у гострій фазі. На фоні цього концентрація комплементу знижена до значення 33,9 CH₅₀ (за норми 40–60), а значення ЦК значно підвищене (0,200 од. опт. щільн.). Ці показники свідчать про виснаження гуморальної ланки імунітету.

При трихомоніазі спостерігається значне підвищення рівня IgG (до 19,4 г/л) на фоні нормальних значень IgM та IgA та підвищення концентрації комплементу. Ці показники дозволяють стверджувати про перехід трихомоніазу у хронічну форму.

Дослідження різних класів імуноглобулінів при гарднерельозі показало, що середній рівень IgA, IgM та IgG, показники комплементу та ЦК перебувають у межах норми. У зв'язку з тим, що гарднерели – умовно патогенні представники мікрофлори піхви, підвищення їх кількості при вагітності не викликає суттєвих відхилень у показниках гуморального імунітету.

При виявленні *Leptotrix vaginalis* спостерігається збільшення рівня IgM, що є показником наявності гострої бактеріальної інфекції. Разом із цим наявність великої кількості *L. vaginalis* у мікрофлорі піхви, можливо, є причиною виснаження захисних можливостей макроорганізму та зниження активності комплементу.

Висновки

Досліджена мікрофлора 255 пацієнток відділення патології вагітних Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. Мечникова представлена грибами роду *Candida*, *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii*, *Chlamidia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* та *Leptotrix vaginalis*. Найчастіше у вагітних жінок виявляються гриби роду *Candida*. При виявленні у вагінальних мазках вагітних грибів роду *Candida*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamidia trachomatis* і *Toxoplasma gondii* спостерігаються значні зміни клітинних показників імунітету, висока концентрація циркулюючих імунних

комплексів. Виявлено зміну імунологічних показників (зниження у 1,5–2,0 рази імунорегуляторного індексу) за наявності грибів роду *Candida* та *Toxoplasma gondii* у вагітних. Концентрація циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові вагітних із *Chlamidia trachomatis* збільшується удвічі порівняно з нормою.

Бібліографічні посилання

1. **Акопян Т. Э.** Бактериальный вагиноз и беременность // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 6. – С. 3–5.
2. **Борисов Л. Б.** Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии. – М. : Медицина, 2003. – 232 с.
3. **Воробьев А. А.** Медицинская и санитарная микробиология. – М. : Академия, 2003. – 464 с.
4. **Коротяев А. И.** Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – СПб. : СпецЛит, 1998. – 580 с.
5. **Поздеев О. К.** Медицинская микробиология / О. К. Поздеев, В. И. Покровский. – М. : Гектармед, 2001. – 656 с.
6. **Практична мікробіологія** / С. Є. Климнюк, І. О. Ситник, М. С. Творко та ін. – Т. : Укрмедкнига, 2002. – 352 с.
7. **Приказ** Минздрава СССР от 22.04.1985 г. № 535 об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. – 12 с.
8. **Соколова І. Є.** Основи імунології / І. Є. Соколова, А. І. Вінніков, Т. М. Полішко. – Д. : Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2007. – 560 с.
9. **Jenkins W. D.** Development and evaluation of GIS-based *Chlamydia trachomatis* intervention policy in Illinois // AIDS Book Review Journal. – 2007. – Vol. 11, № 2. – P. 120–124.
10. **Korenek P.** Differentiation of the vaginoses – Bacterial vaginosis, Lactobacillosis, and cytolytic vaginosis / P. Korenek, R. Britt, C. Hawkins // The Journal of Advanced Medical Practice. – 2008. – Vol. 6, N 1. – P. 35–41.
11. **Money D.** The laboratory diagnosis of bacterial vaginosis // The Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. – 2005. – Vol. 16, N 2. – P. 77–79.
12. **Soares de Camargo R. P.** Impact of treatment for bacterial vaginosis on prematurity among Brazilian pregnant women // Sao Paulo Medical Journal. – 2005. – Vol. 123, N 3. – P. 56–59.

Надійшла до редакції 15.03.2012