

УДК 618.145 – 022.1:618.177

© Колектив авторів, 2011.

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБІОЦЕНОЗУ ЕНДОМЕТРІЯ ЖІНОК ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Л. М. Рак, Т. А. Юзько, О. М. Юзько, О. А. Андрієць

Кафедра акушерства і гінекології з курсом дитячої та підліткової гінекології (зав. кафедри – проф. О. М. Юзько), Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці.

PECULIARITIES OF THE ENDOMETRIAL MICROBIOCECENOSIS IN STERILE FEMALES TREATED BY REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES

L. M. Rak, T. A. Yus'ko, O. M. Yus'ko, O. A. Andriets`

SUMMARY

A microbiological study of the endometrium in women with sterility in a program using supplementary reproductive technologies (SRT) has been carried out. A persistence of pathogens of urogenital infections in the endometrium of the women under study has been established and the necessity of using these methods of examination in a program of preparation prior to the start of SRT has been proved.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ЭНДОМЕТРИЯ ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ, КОТОРЫЕ ПРОХОДЯТ ЛЕЧЕНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Л. М. Рак, Т. А. Юзько, А. М. Юзько, О. А. Андрієць

РЕЗЮМЕ

Проведены микробиологические исследования эндометрия у женщин с бесплодием в программе с использованием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и у репродуктивно здоровых женщин. Выявлен широкий спектр персистирующих возбудителей урогенитальных инфекций в эндометрии женщин с бесплодием, доказана необходимость диагностики микробного поражения эндометрия в программе подготовки к ВРТ еще до начала программы.

Ключові слова: безпліддя, ендометрій, урогенітальні інфекції, запалення.

При підготовці пацієнтки до екстракорпорального запліднення з ембріотрансфером в порожнину матки (ЕКЗ з ЕТ) обов'язковим є мікробіологічне дослідження вмісту піхви і цервікального каналу на наявність збудників урогенітальних інфекцій [4]. Питання необхідності мікробіологічного дослідження ендометрія в циклах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) до сьогодні залишається поза увагою лікарів. Водночас, невдачі застосування ДРТ можуть залежати, разом з багатьма відомими і поки невідомими причинами, також і від мікробних уражень статевих органів чоловіків і жінок [2, 3]. Нерідко клінічна картина статевої інфекції характеризується млявим або латентним перебігом [5]. Важливим є своєчасне виявлення безсимптомних випадків захворювання ще на етапі підготовки пацієнтки до цієї складної лікувальної програми.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Проведено всебічне обстеження 147 жінок 2-х груп: основної (103 пацієнтки з безплідністю різного генезу, яким планували застосовувати ДРТ – програму контрольованого зачаття, ЕКЗ з ЕТ, внутрішньоматкову інсемінацію в стимульованих циклах, а також при неефективності застосування перерахованих

методик в нестимульованих циклах протягом 6 місяців) і контрольної (44 практично здорові жінки репродуктивного віку, які народжували і не мали проблем із зачаттям). Серед пацієнток контрольної групи – жінки, яких обстежували перед операцією добровільної лапароскопічної стерилізації, в т.ч., при підозрі на патологію ендометрія (за даними УЗД) перед вилученням внутрішньоматкової спіралі. Основна група була розподілена на дві підгрупи – I (18 пацієнток із безрезультатними спробами ДРТ в анамнезі) та II (85 жінок із вперше запланованими ДРТ). Групи обстежених жінок були репрезентативними за основними показниками. В анамнезі пацієнток I групи відмічено від однієї до шести безрезультатних спроб ДРТ, які проводились в стимульованих циклах. Аналіз результатів їх застосування у цих жінок показав, в основному, порушення процесів імплантації (у 94,4% жінок).

Метою дослідження було вивчення особливостей мікробіоценозу ендометрія пацієнток із безплідністю, включених у програму ДРТ, та у репродуктивно здорових жінок для оцінки можливого впливу інфекційного фактора на ефективність ДРТ та вирішення питання доцільності проведення мікробіо-

логічних досліджень ендометрія у данного контингенту жінок; оцінка діагностичної цінності гістероскопії в даному напрямку.

Обстеження жінок було направлене на діагностику стану порожнини матки, ендометрія – їх анатомічного та функціонального стану, а також мікробного ураження слизової матки. Застосовували рідинну гістероскопію з використанням жорсткої оптики або фіброгістероскопа («Karl Storz», Німеччина).

Мікробіологічні дослідження біоптатів ендометрія були спрямовані на уточнення наявності збудників інфекції в ендометрії обстежуваних жінок, вивчення їх видового складу та популяційного рівня, провідних збудників запалення. У групу обстеження включали жінок з відсутністю явних ознак інфекції на момент обстеження. Для вивчення мікробіоценозу ендометрія досліджували гістеробіоптати ендометрія, які отримували в стерильних умовах під час гістероскопії. Біопсія ендометрія для проведення мікробіологічного дослідження проводилась за допомогою гістероскопічних щипців з патологічно змінених ділянок ендометрія, які візуально характеризувались ознаками запалення – ділянки запальних нашарувань, яскраво гіперемовані, які часто кровоточили при контакті з тубусом гістероскопа. Бактеріологічне дослідження біоптатів ендометрія культуральним методом проведено у 38 пацієток основної групи і 29 жінок групи контролю; ідентифікацію збудників інфекцій, що передаються статевим шляхом (ЗІПСШ), проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). В основній групі діагностика хламідіозу проведена у 41 пацієнтки, мікоплазмозу – у 39, уреоплазмозу – у 39, герпетичної інфекції – у 38, цитомегаловірусу – у 21; в контролі, відповідно, на всі збудники обстежено 44 жінки, на цитомегаловірус – 15 пацієток. При ідентифікації збудників уrogenітальних інфекцій в ендометрії користувались рекомендаціями І.І. Маврова та співавт. [5, 7] стосовно уніфікації лабораторних методів дослідження. В стерильних умовах на початку гістероскопії (до початку профілактичної антибіотикотерапії) біоптати ендометрія виводили через тубус операційного каналу гістероскопа. Для подальшого бактеріологічного дослідження біоптат вносили у пробірку з рідким поживним середовищем з подальшим висіванням досліджуваного матеріалу в чашки Петрі на тверді селективні поживні середовища, оптимальні для кожної групи мікроорганізмів. Для постановки ПЛР інший біоптат вносили в стерильну поліпропіленову пробірку на 1,5 мл типу «Eppendorf» із 100 мкл фізіологічного розчину, після чого проводили обробку клінічних проб та ампліфікацію ДНК згідно з методикою проведення ПЛР [7]. При культуральному дослідженні виділені мікроорганізми ідентифікували за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями відповідно до визначника бактерій Дж. Берджі (1997); проводили мікроекологічний аналіз результатів мікробіологічних досліджень – використовували

показник індексу постійності (С), який характеризує ступінь домінування того чи іншого збудника гнійно-запального процесу і характеризується частотою виділення виду мікроорганізму в патологічному матеріалі, а також використовували показник зустрічання (Pi) для оцінки частоти виявлення популяцій різних мікроорганізмів у патологічному матеріалі (визначається числом штамів даного виду по відношенню до загальної кількості штамів, що виділені в обстежених жінок). Для оцінки інтенсивності контамінації ендометрія враховували ступінь росту (СР) мікроорганізмів на поживних середовищах [6, 7]. Для вибору адекватної протизапальної терапії проводили визначення чутливості виділених мікроорганізмів до антибіотиків методом стандартних індикаторних дисків.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за методами варіаційної статистики. Достовірність вибіркової різниці вимірювали довірливим критерієм точності. При порівнянні невеликих вибірок застосовували непараметричний метод ϕ (кутового перетворення Фішера). Величину p (достовірність різниці) визначали за таблицею Ст'юдента-Фішера. Різницю між середніми величинами, які порівнювалися, вважали достовірною при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті проведених досліджень встановлено достовірно вищу частоту контамінації патогенною та умовно-патогенною бактеріальною флорою ендометрія жінок основної групи (81,6% (31) жінок, що на 71,2% перевищило таку в контрольній групі, де виділені лише умовно-патогенні мікроорганізми (у 10,3% (3), $p < 0,001$); ЗІПСШ діагностовано лише в ендометрії пацієток з безплідністю (у 12 (29,3%) жінок). Серед виявлених мікроорганізмів у жінок основної групи були: *Staphylococcus aureus* (47,4%), *Candida albicans* (26,3%), *Escherichia coli* (13,2%), *Neisseria gonorrhoeae* (10,5%) та *Staphylococcus epidermidis* (10,5%); серед ЗІПСШ – *Chlamydia trachomatis* (12,2%), *Mycoplasma hominis* (10,3%), *Ureaplasma urealiticus* (5,1%), *Cytomegalovirus* (4,8%), *Herpes simplex virus, t. II* (2,6%); в 1 випадку (8,3%) виявлено асоціацію двох ЗІПСШ (*Mycoplasma hominis* і *Cytomegalovirus*). В ендометрії 3-х репродуктивно здорових жінок виявлено лише умовно патогенні мікроорганізми – *S. aureus* (3,5%) та *C. albicans* (6,9%) у вигляді моноінфекції, в той час, як в основній групі значну частку (25,8%) склали 2-3-х-компонентні мікробні асоціації. Встановлено вищий ступінь мікробної контамінації ендометрія жінок з безплідністю в порівнянні з показниками в контрольній групі. Так, з ендометрія пацієток основної групи виділено 41 штам патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, в той час, як у жінок групи контролю – 3 штами, відповідно, інтенсивність контамінації (кількість штамів на одну жінку) склала 1,32 штами проти 0,10 штама в контролі. Виявлено, що в основній групі контамінація ендометрія мікроорганізмами супроводжується II, III та IV СР, у

той час, як в групі контролю виявлено лише II СР мікроорганізмів, що свідчить лише про персистенцію збудників інфекції в ендометрії, без ініціації ними запального процесу. Наявність випадків III і IV СР мікроорганізмів, виділених з ендометрія 19 (61,3%) жінок основної групи, свідчить про можливу етіопатогенетичну роль мікробів у виникненні патологічних процесів у слизовій оболонці матки.

Порівняльний аналіз результатів мікробіологічних досліджень ендометрія жінок I та II груп вказує на доцільність ідентифікації персистуючої в ендометрії патогенної та умовно патогенної мікрофлори та ЗІПСШ у контингенту жінок обидвох груп (достовірної різниці між основними порівнюваними показниками не виявлено: 76,9% та 84,0% – частота інфікування бактеріальною флорою, $p > 0,05$; з них у 70,0% та 76,2% жінок мала місце моноінфекція, $p > 0,05$; у 30,0% та у 23,8% – асоціації мікроорганізмів, $p > 0,05$; показник інтенсивності контамінації ендометрія мікроорганізмами – однаковий в обох групах – 1,30 штама; виділена мікрофлора виявилась однотипною, без достовірних відмінностей між частотою зустрічання: у групах порівняння – 46,2% (6) та 48,0% (12) випадків діагностики *S. aureus*, $p > 0,05$, 23,1% (3) та 4,0% (1) – *S. epidermidis*, $p > 0,05$; 7,7% (1) та 12,0% (3) випадків *N. gonorrhoeae*, $p > 0,05$; 7,7% (1) та 16,0% (4) – *E. coli*, $p > 0,05$; 15,4% (2) та 32,0% (8) – частота зустрічання *C. albicans*, $p > 0,05$). Аналіз видового складу ідентифікованих ЗІПСШ в пацієток I та II груп також показав однотипність виявлених збудників інфекції та відсутність достовірної різниці між частотою їх зустрічання (7,7% проти 14,3% хламідій; 7,7% проти 11,5% мікоплазм; 7,7% проти 3,9% уреоплазм та 9,1% проти 3,7% вірусних агентів, $p > 0,05$).

Оцінка популяційного рівня провідних збудників – умовно патогенних мікроорганізмів – показала, що *S. aureus* персистує в ендометрії у критичній популяції для умовно-патогенних мікроорганізмів (популяційний рівень – $3,38 \pm 0,35$; $C = 0,57$; $KD = 61,35$), що доводить роль *S. aureus* у виникненні в ендометрії запального процесу. Виявлений популяційний рівень *E. coli* ($2,93 \pm 0,16$) та *C. albicans* ($2,21 \pm 0,28$) також підтверджує їх патогенетичну роль у запаленні ($C = 0,11$ та $0,10$; $KD = 11,82$ та $11,14$ відповідно для вказаних мікроорганізмів). *S. epidermidis* слід розглядати як мікроб, який контамінував біотоп і знаходиться на експотенціальній стадії розвитку (популяційний рівень $1,30 \pm 0,01$; $C = 0,03$; $KD = 7,67$), або захисні сили макроорганізму стримують його проліферацію. Нами не вивчався популяційний рівень гонокока, оскільки даний мікроб є облигатно патогенним для досліджуваного біотопу.

Аналіз мікробіологічного обстеження 36 жінок основної групи та 29 жінок групи контролю, в яких була проведена діагностика всього спектру інфекційних агентів (як бактеріальної флори, так і збудників ІПСШ) показав високу частоту інфікування ендометрія жінок основної групи – 83,3% (30) випадків, що достовірно перевищило такі показники в групі конт-

ролю, де виявлено лише умовно-патогенні мікроорганізми у вигляді моноінфекції в 10,3% обстежених пацієток ($p < 0,001$ у порівнянні з основною групою). У 13 випадках (36,1%) виявлено 2-3-членні асоціації бактеріальної флори зі ЗІПСШ.

Жінкам, в яких діагностовано інфекційне ураження ендометрія, призначали протизапальну терапію за загальноприйнятими схемами в стандартних дозах, рекомендованих для лікування урогенітальних інфекцій з урахуванням рекомендацій стосовно передгравідарної підготовки жінок до програми ДРТ [1, 4, 5]. Протимікробне лікування призначали усім пацієткам, незалежно від інтенсивності контамінації ендометрія мікробними агентами, враховуючи доведену можливість загострення інфекції під впливом стимуляторів овуляції, самої вагітності, стресу [1, 4].

ВИСНОВКИ

1. Персистування патогенної та умовно-патогенної бактеріальної мікрофлори має безумовний негативний етіопатогенетичний вплив на імплантаційні здатності ендометрія. Проведення мікробіологічного скринінгу ендометрія в програмі підготовки до допоміжних репродуктивних технологій є доцільним в усіх жінок – як при вперше, так і при повторно запланованих допоміжних репродуктивних технологіях.

2. Дослідження мікрофлори порожнини матки більш достовірно характеризує інфекційний агент, який підтримує хронічний запальний процес в ендометрії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Адаскевич В. П. Инфекции, передаваемые половым путем / Адаскевич В. П. – М.: Медицинская книга НГМА, 2001. – 415 с.
2. Башмакова М. А. Лабораторная диагностика генитальных инфекций (клин. лекция) / М. А. Башмакова, А. М. Савичева // Проблемы репродукции. – 2000. – № 1. – С. 20–24.
3. Допоміжні репродуктивні технології лікування безпліддя : навч. посіб. для лікарів-слухачів закладів (факультетів) післядипломної освіти / [Дахно Ф. В., Камінський В. В., Юзько О. М. та ін.] / за ред. Ф. В. Дахна, В. В. Камінського, О. М. Юзька. – К., 2011. – 338 с.
4. Кулаков В. И. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии / под ред. В. И. Кулакова, Б. В. Леонова, Л. Н. Кузьмичева. – М.: МИА, 2005. – 592 с.
5. Мавров И. И. Лечение хламидиоза и микоплазмоза : информ.-метод. пособие [для врачей-дерматовенерологов] / И. И. Мавров, Г. И. Мавров. – Х.: Факт, 2000. – 24 с.
6. Определитель бактерий Берджи / [Хоулт Дж., Криг Н., Снейг П. и др.]; под ред. Дж. Хоулта. – [в 2-х томах, пер. с англ.]. – М.: Мир, 1997. – С. 800–811.
7. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом / [І. І. Мавров, О. П. Белозоров, Л. С. Тацька та ін.]. – Х.: Факт, 2000. – 120 с.