

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения
Российской Федерации

На правах рукописи

Гаспарян Ани Арменовна

**ОСОБЕННОСТИ БИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА НА ФОНЕ ТЕРАПИИ
ГЛЮКОКОРТИКОИДАМИ**

Специальность: 14.01.01 - акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Д.м.н., профессор Соснова Е.А.

Москва,
2015

СОДЕРЖАНИЕ:

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. БИОЦЕНОЗ ВЛАГАЛИЩА, ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА НЕГО (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	7
1.1. Биоценоз влагалища. Качественный и количественный состав.	7
1.2. Возрастные особенности биоценоза. Биоценоз влагалища женщин репродуктивного возраста.....	7
1.3. Биоценоз влагалища женщин в постменопаузе.....	18
1.3.Влияние факторов внутренней (соматические заболевания) и внешней среды (лекарственная терапия) на биоценоз.....	20
1.4. Особенности терапии глюкокортикоидами	24
1.5. Современные методы лабораторных исследований биоценоза влагалища.....	54
ГЛАВА 2.КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	64
2.1. Клиническая характеристика больных.....	64
2.2. Методы исследования.	67
2.2.1. Клиническое обследование	67
2.2.2.Изучение биоценоза влагалища (тест Фемофлор)	86
2.3.Статистическая обработка результатов.....	96
ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ БИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДАМИ.....	97
3.1.Биоценоз влагалища пациенток репродуктивного возраста, на терапии глюкокортикоидами	97
3.2.Влияние глюкокортикоидной терапии на биоценоз влагалища у пациенток в постменопаузе.....	110
3.3.Микробный пейзаж мочи пациенток, находящихся на терапии глюкокортикоидами.....	119
ОБСУЖДЕНИЕ	138
ВЫВОДЫ.....	150
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	153
БИБЛИОГРАФИЯ.....	155

Актуальность темы.

Глюкокортикоиды являются эффективными терапевтическими средствами во многих случаях. Основными показаниями к применению глюкокортикоидов являются коллагенозы, ревматизм, ревматоидный артрит, бронхиальная астма, острый лимфобластный и миелобластный лейкоз, инфекционный мононуклеоз, экзема и другие кожные болезни, различные аллергические заболевания.[8] Для терапии атопических, аутоиммунных заболеваний глюкокортикоиды являются базовыми патогенетическими средствами. Применяют глюкокортикоиды также при гемолитической анемии, гломерулонефрите, остром панкреатите, вирусном гепатите и заболеваниях органов дыхания (ХОБЛ в фазе обострения, острый респираторный дистресс-синдром и др.).[36,37] Современные глюкокортикоиды представляют собой группу средств, широко применяющихся в клинической практике, в т.ч. в ревматологии, пульмонологии, эндокринологии, дерматологии, офтальмологии, оториноларингологии.

Необходимо, однако, учитывать, что они могут вызывать ряд побочных эффектов, в том числе симптомокомплекс Иценко-Кушинга (задержка натрия и воды в организме с возможным появлением отеков, потеря калия, повышение АД), гипергликемию вплоть до сахарного диабета (стероидный диабет), замедление процессов регенерации тканей, обострение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, изъязвление пищеварительного тракта, прободение нераспознанной язвы, геморрагический панкреатит, понижение сопротивляемости организма к инфекциям, гиперкоагуляцию с риском тромбоза, появление угрей, лунообразного лица, ожирения, нарушения менструального цикла и др.[37]

Для предупреждения нежелательных эффектов, связанных с применением глюкокортикоидов, следует, особенно при длительном лечении, тщательно наблюдать за динамикой роста и развития у детей, периодически проводить офтальмологическое обследование (для выявления глаукомы, катаракты и др.), регулярно контролировать функцию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, содержание глюкозы в крови и моче (особенно у больных сахарным диабетом), проводить контроль АД, ЭКГ, электролитного состава крови, контроль

за состоянием ЖКТ, костно-мышечной системы, контроль за развитием инфекционных осложнений и др.[7,36]

Механизм действия глюкокортикоидов на молекулярном уровне до конца не выяснен. Исследования последних лет показывают, что ГК-рецепторы взаимодействуют, кроме GRE, с различными факторами транскрипции, такими как активаторный белок транскрипции (AP-1), ядерный фактор каппаВ (NF-kB) и др. Показано, что ядерные факторы AP-1 и NF-kB являются регуляторами нескольких генов, принимающих участие в иммунном ответе и воспалении, включая гены цитокинов, молекул адгезии, протеиназ и др.[8]

Кроме того, недавно открыт еще один механизм действия глюкокортикоидов, связанный с влиянием на транскрипционную активацию цитоплазматического ингибитора NF-kB — IκBa.

Глюкокортикоиды вызывают множество эффектов, т.к. оказывают влияние на большинство клеток организма. [37]

Они обладают противовоспалительным, десенсибилизирующим, противоаллергическим и иммунодепрессивным действием, противошоковыми и антитоксическими свойствами.

Противовоспалительное действие глюкокортикоидов обусловлено многими факторами, ведущим из которых является подавление активности фосфолипазы A_2 . При этом глюкокортикоиды действуют опосредованно: они увеличивают экспрессию генов, кодирующих синтез липокортинов (аннексинов), индуцируют продукцию этих белков, один из которых — липомодулин — ингибирует активность фосфолипазы A_2 . Угнетение этого фермента приводит к подавлению либерацииарахидоновой кислоты и торможению образования ряда медиаторов воспаления — простагландинов, лейкотриенов, тромбоксана, фактора активации тромбоцитов и др. Кроме того, глюкокортикоиды уменьшают экспрессию гена, кодирующего синтез ЦОГ-2, дополнительно блокируя образование провоспалительных простагландинов.[8,36]

Характерной особенностью глюкокортикоидов является иммунодепрессивная активность. В отличие от цитостатиков, иммунодепрессивные свойства

глюкокортикоидов не связаны с митостатическим действием, а являются результатом подавления разных этапов иммунной реакции: торможения миграции стволовых клеток костного мозга и В-лимфоцитов, подавления активности Т- и В-лимфоцитов, а также угнетения высвобождения цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, интерферона-гамма) из лейкоцитов и макрофагов. Кроме того, глюкокортикоиды снижают образование и увеличивают распад компонентов системы комплемента, блокируют Fc-рецепторы иммуноглобулинов, подавляют функции лейкоцитов и макрофагов.[36,37]

Цель и задачи исследования.

Цель исследования:

Выявить особенности биоценоза влагалища у пациенток, принимающих глюкокортикоидную терапию и оптимизировать тактику обследования и коррекции нарушений у данной группы больных.

В соответствии с целью исследования были определены **следующие задачи:**

Задачи исследования:

1. Изучить биоценоз влагалища у пациенток различных возрастных групп, получающих терапию глюкокортикоидами.
2. Изучить микробный пейзаж мочи у пациенток различных возрастных групп, на фоне глюкокортикоидной терапии.
3. Разработать и обосновать алгоритм адекватного целесообразного обследования пациенток, получающих терапию препаратами глюкокортикоидного ряда.
4. Определить оптимальные сроки и методы коррекции состояния биоценоза влагалища у пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами.

Научная новизна. Вопросы изменения биоценоза влагалища и состояние местного иммунитета никогда ранее не являлось объектом исследования ни

акушеров-гинекологов, ни врачей терапевтов. Дело в том, что пациентки, получающие глюкокортикоиды, имеют столь тяжелый соматический анамнез, что «такие мелочи», как влагалищный биоценоз, на общем фоне заболевания не привлекает внимания специалистов.

Впервые определен не только качественный, но количественный состав биотопа влагалища у пациенток репродуктивного возраста и в постменопаузе, получающих терапию глюкокортикоидами.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ.

1. Терапия глюкокортикоидами является провоцирующим фактором формирования дисбиотических изменений влагалища .
2. Изменения биоценоза влагалища на фоне приема препаратов глюкокортикоидного ряда характеризуются отсутствием клинических проявлений и скудной лабораторной «симптоматикой».
3. Применение на фоне приема препаратов глюкокортикоидного ряда «классических» (стандартных) методов диагностики нарушений биоценоза не позволяют выявить истинную картину изменений.
4. Дисбиотические изменения влагалища на фоне глюкокортикоидной терапии провоцируют развитие у данной группы пациенток восходящей бессимптомной инфекции мочевыводящих путей (не бессимптомной бактериурии).
5. Пациентки, принимающие глюкокортикоиды, нуждаются в углубленном расширенном обследовании и ранней профилактической коррекции дисбиоза влагалища.

ГЛАВА 1. БИОЦЕНОЗ ВЛАГАЛИЩА, ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА НЕГО (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).

1.1. Биocenоз влагалища. Качественный и количественный состав.

1.2. Возрастные особенности биocenоза. Биocenоз влагалища женщин репродуктивного возраста.

У клинически здоровой женщины репродуктивного возраста во влагалище присутствует широкий спектр микроорганизмов. В зависимости от биологических свойств, сложившихся взаимоотношений с другими микроорганизмами и взаимодействия с макроорганизмом разные виды играют различную роль в этом сообществе.

Микробиocenоз влагалища у женщин репродуктивного возраста - хорошо сбалансированная и устойчивая система. В норме в этом биотопе существуют микроорганизмы, способные существовать и развиваться в конкретной физической среде, не вызывая заболевания макроорганизма. Многокомпонентность и динамичность видового и количественного состава микробиocenоза обеспечивают гибкое приспособление микроорганизмов к изменениям среды обитания [10,34]. Поскольку сложившаяся система микроорганизмов способна к восстановлению и саморегуляции, к сообществам влагалища применим термин **биocenоз** — сложившаяся совокупность микроорганизмов, населяющих влагалище.

Видовой и количественный состав

Микроорганизмы, которые могут определяться при помощи современных лабораторных методик в биоматериале из влагалища здоровой женщины репродуктивного возраста, можно разделить на несколько групп (рис. 1):



Рис.1 Микробиологические параметры биоценоза.

Нормофлора у женщин репродуктивного возраста представлена несколькими видами *Lactobacillus* spp. и составляет основу биоценоза влагалища.

Систематика микроорганизмов:

Надцарство Прокариоты

Царство Бактерии

Отд. *Firmicutes*

Класс *Bacilli*

Пор. *Lactobacillales*

Сем. *Lactobacillaceae*

Абсолютное количество лактобактерий может колебаться в достаточно широких пределах и требует количественной оценки. По данным разных авторов количество лактобацилл во влагалище здоровой женщины составляет от 10^5 до 10^9 КОЕ/мл, что примерно составляет 95% всей микрофлоры влагалища [31]. Колонизируя слизистую влагалища, лактобактерии участвуют в формировании экологического барьера и тем самым поддерживают гомеостаз макроорганизма [28,72]. Следует отметить, что основными механизмами, обеспечивающими колонизационную резистентность вагинального биотопа, являются

кислотообразование и продукция перекиси водорода. Блокируя рецепторы эпителиальных клеток, лактобациллы предупреждают адгезию потенциальных патогенных микроорганизмов.

Условно-патогенная микрофлора влагалища представлена широким спектром Грам+ и Грам- бактерий и несколькими видами грибов. Помимо лактобактерий в состав нормальной микрофлоры урогенитального тракта женщины входит широкий спектр микроорганизмов [66], насчитывающий по приблизительным оценкам более 300 различных видов. Наиболее часто среди облигатно-анаэробных микроорганизмов во влагалище здоровой женщины встречаются: пептококки и пептострептококки (33-77%), фузобактерии, мобилункус, клостридии [95,115].

Нуман и соавт [70] с помощью использования метода амплификации и секвенирования рибосомальной РНК генов 16s показали, что в составе микрофлоры влагалища здоровых женщин могут преобладать как *Lactobacillus*, так и *Gardnerella vaginalis*, а также *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Pseudomonas* и *Streptococcus*. Новые молекулярные методы, используемые для изучения вагинальной микрофлоры, связаны с открытием того факта, что доминирующим микроорганизмом микрофлоры влагалища может быть также *Atopobium vaginae*. Данный микроорганизм недавно был признан распространенным влагалищным микроорганизмом, и его роль в развитии дисбиотических состояний нижнего отдела гениталий по-прежнему является предметом дискуссий. Вместе с тем, исследования Bradshaw и соавторы [50] показали, что 99% женщин с клинико-микробиологическим подтвержденным диагнозом бактериального вагиноза (БВ) имеют положительный результат исследования методом ПЦР на *G vaginalis*, и 96% женщин с БВ имеют положительный результат исследования методом ПЦР на *Atopobium vaginae* [77,81].

Само по себе присутствие или отсутствие какого-либо вида из этого списка (например, *Gardnerella vaginalis* или *Candida spp.*) не несет практически никакой диагностической информации. Попытки качественного определения данных микроорганизмов с помощью различных методов, имеющих разную

чувствительность, часто приводят к противоречивым результатам и плохо согласуются с клиническими данными.

Патогенные свойства условно-патогенной флоры проявляются лишь в определенных условиях нарушения иммунного гомеостаза макроорганизма и местной колонизационной резистентности. Поэтому современная диагностика должна учитывать возможную этиологическую роль широкого спектра микроорганизмов, а не только какого-либо конкретного инфекционного агента, как при диагностике инфекций, передающихся половым путем [20]. Сегодня, применительно к условно-патогенной флоре, все чаще используется термин «дисбиотические нарушения» или «дисбиоз» в отличие от безусловно-патогенных микроорганизмов [80,81].

Gardnerella vaginalis - анаэробная грам-вариабельная (чаще грам-отрицательная) мелкая бактерия, представитель условно-патогенной микрофлоры человека. Была выделена у женщины с вагинитом и описана Gardner и Dukes в 1955 как *Haemophilus vaginalis*, а в дальнейшем в 1980 г. была названа в честь открывателя *Gardnerella vaginalis*.

Систематика микроорганизма:

Надцарство Прокариоты

Царство Бактерии

Отд. *Actinobacteria*

Класс *Actinobacteria*

Пор. *Bifidobacteriales*

Сем. *Bifidobacteriaceae*

Gardnerella vaginalis принято считать основным возбудителем бактериального вагиноза, так как данный микроорганизм выделяют из влагалища абсолютного большинства пациенток с БВ.

Микроорганизм хорошо растет на питательных средах. Однако, в настоящее время культивирование *Gardnerella vaginalis* на питательных средах не рекомендуется к использованию, т.к. этот микроорганизм часто обнаруживается и у здоровых женщин [10,13]. Молекулярно-биологические методы исследования

позволяют не только выявлять *G.vaginalis*, но и оценивать количество ДНК микроорганизма в исследуемом биоматериале.

G.vaginalis способна к образованию микропленок (биофильмов) на поверхности эпителиальных клеток [85]. Считается, что это свойство микроорганизма делает его более устойчивым к действиям антибактериальных препаратов.

Бактериальный вагиноз (БВ) имеет четкую микробиологическую характеристику и патогномичным его признаком является увеличение в сотни раз общей микробной обсемененности влагалищного биотопа с абсолютным преобладанием облигатных грамотрицательных бактерий и минимальным количеством или отсутствием лактобактерий. Учитывая астрономическое количество условно-патогенной микрофлоры, во влагалище накапливается огромное количество микробных метаболитов, токсических веществ, антигенов, запускающих патогенетические механизмы различных патологических процессов [1,83].

При дисбактериозе влагалищного биотопа, в частности, при бактериальном вагинозе, происходят изменения, которые характеризуются качественными и количественными нарушениями микрофлоры влагалища:

- наличие конкурентного роста одного или нескольких условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), возрастание количества облигатно- и факультативно-анаэробных микроорганизмов
- помимо анаэробов возможно обнаружение аэробных микроорганизмов (стрептококки группы В, С, D, стафилококки, *Escherichiacoli*, *Proteus*), микоплазм и грибов рода *Candida*.

Изменение микроэкологии в сторону доминирования *G. vaginalis* над *Lactobacillus spp.* приводит к возникновению благоприятных условий для роста большого количества облигатно-анаэробных микроорганизмов, рН влагалищного отделяемого сдвигается в сторону щелочной среды, что подавляет рост лактофлоры. Анаэробные бактерии, в свою очередь, синтезируют ферменты –

аминопептидазы, которые расщепляют пептиды до аминокислот, и декарбоксилазы, которые расщепляют аминокислоты до аминов, что обуславливает характерный для БВ рыбный запах [18,29] Амины, образуемые аминопептидазами, способствуют еще большему сдвигу pH в сторону щелочной среды. Таким образом, создаются условия для прикрепления присутствующих во влагалище в большом количестве бактерий, в основном *G.vaginalis* к эпителиальным клеткам влагалища, которые слущиваются с поверхности слизистой оболочки. Зрелые эпителиальные клетки с адгезированными на них микроорганизмами, ассоциированными с БВ (гарднерелла, мобилункус, грамположительные кокки) носят название «ключевые клетки» и характерны для микроскопической картины БВ.

Повышенное количество анаэробных грамотрицательных палочек, пептострептококков и др. условно-патогенных микроорганизмов в нижних отделах полового тракта женщин с бактериальным вагинозом является фактором риска развития разнообразных генитальных инфекций и осложнений беременности, а также может быть причиной восходящего уретрита, сальпингоофорита [18,90,92].. Показано, что повышенная продукция фермента сиалидазы анаэробными микроорганизмами при БВ обладает способностью нарушать целостность околоплодных оболочек, что является предрасполагающим фактором к возникновению инфекционных осложнений при беременности и в родах [28,29]. В сложной цепи патогенеза воспалительных заболеваний женских половых органов существенная роль отводится иммунным реакциям организма. Снижение неспецифической резистентности у таких больных является одной из причин воспалительного процесса, рецидивирующего его течения, торможения регенерации и восстановления функции пораженных органов. Исследования Andrews и соавт. (2006) [42] выявили взаимосвязь между развитием хориоамнионита и повышением уровня ИЛ-6 с преждевременными родами у больных с бактериальным вагинозом. Длительное, нередко бесконтрольное применение антибиотиков, нарушения в эндокринной системе, частые

спринцевания могут также являться предрасполагающими факторами, ведущими к развитию бактериального вагиноза.

Патологические выделения из влагалища являются клиническим симптомом ряда инфекционно-воспалительных заболеваний нижнего отдела гениталий. Проведение дифференциальной диагностики с привлечением лабораторных методов исследования позволит правильно поставить диагноз и в последующем рекомендовать этиопатогенетическую терапию. В последние годы в своей клинической практике врачи все большее значение придают дифференциальной диагностике БВ с такими заболеваниями как вульвовагинальный кандидоз, трихомониаз, аэробный вагинит [97,98].

Клинические проявления БВ, в случае его течения в виде моноинфекции весьма типичны и характеризуются обильными выделениями из половых путей белого или серого цвета, часто с неприятным запахом, особенно после полового акта или во время менструации. Жалобы на зуд, дизурические расстройства, диспареунию, встречаются реже и могут совсем отсутствовать или появляться периодически.

Есть публикации, свидетельствующие о том, что БВ ассоциирован с инфекцией уретрального тракта, цервицитами [2,97,98]. БВ является фактором риска заражения ИППП и ВИЧ-инфекцией. В условиях высоких значений pH возникают благоприятные условия для колонизации мочеполовой системы патогенными микроорганизмами, а также обострения скрыто протекающей вирусной инфекции урогенитального тракта. Смешанные инфекции или инфекции, развившиеся на фоне выраженного дисбаланса состава микроценоза влагалища, наблюдаются в 20-30% случаев клинически выраженных инфекций влагалища [2,67]. Это объясняется низким редокс-потенциалом и гипоксией тканей при БВ, а также высокими показателями pH влагалищного содержимого, при которых создаются предпосылки для роста и размножения различных патогенных микроорганизмов.

При сочетании БВ с другими инфекциями, передаваемые половым путем (ИППП), как правило, наблюдаются признаки воспалительной реакции в виде

отека, гиперемии слизистой влагалища, шейки матки и вульвы [98,107]. Поэтому, при подозрении на микст инфекцию целесообразно проведение комплексного лабораторного мониторинга для их выявления и проведения в последующем адекватной этиопатогенетической терапии.

Вместе с тем следует отметить, что в 24-50% случаев БВ может протекать бессимптомно [9], без каких-либо клинических проявлений заболевания и диагноз БВ может быть поставлен только на основании лабораторных методов исследования.

В настоящее время БВ не относится к заболеваниям, передающиеся половым путем. Вместе с тем показано, что половой акт, который способствует переносу во влагалище собственных бактерий перианальной области полового партнера, внедрение дополнительной флоры полового партнера, частые смены и наличие нескольких половых партнеров повышает риск возникновения БВ.

Наряду с *G. vaginalis*, *Atopobium vaginae* принято считать маркером бактериального вагиноза. Род *Atopobium* был впервые описан группой авторов [69,105,107]. Основанием для его выделения в отдельный род послужили результаты секвенирования гена 16S РНК. Микроорганизм представляет собой несколько вытянутые грам-положительные факультативно-анаэробные кокки (некоторые исследователи считают эту форму палочками) [99].

Систематика *A. vaginae*

Надцарство Прокариоты

Царство Бактерии

Отд. *Actinobacteria*

Класс *Actinobacteria*

пор. *Coriobacteriales*

сем. *Coriobacteriaceae*

род *Atopobium*

Хотя имеются данные о встречаемости *Atopobium vaginae* во влагалище у здоровых женщин [59,99,105,107], тем не менее, большинство авторов указывает на высокую частоту встречаемости этого микроорганизма при БВ, на основании

чего выявление *Atopobium vaginae* считается высоко специфичным маркером бактериального вагиноза [26,51,55,70]. Практически доказана связь вагинального атопобиума с развитием рецидивирующих форм бактериального вагиноза и воспалительных заболеваний малого таза. Выделение и идентификация *Atopobium vaginae* у пациенток с выделениями из влагалища является дополнительным критерием БВ и прогностическим фактором длительного рецидивирующего течения заболевания. Особенно часто при БВ наблюдается ассоциация *Atopobium vaginae* с *Gardnerella vaginalis*. Тем не менее, продолжается дискуссия – является ли *Atopobium vaginae* причиной БВ или только маркером.

Трудность лечения БВ может быть связана с тем, что *A. vaginae* является высоко устойчивым к метронидазолу — традиционному средству для лечения бактериального вагиноза. Обнаружение вагинального атопобиума позволяет избегать неэффективного лечения и вовремя назначить специфическую терапию. В настоящее время обсуждается абсолютная устойчивость микроорганизма к метронидазолу, проведено исследование 9 штаммов *A. vaginae*, не все из них оказались устойчивы в равной степени (показатель колебался в пределах от 2 до 256 мг/мл) [52]. Еще одна группа микроорганизмов, относительно которых у исследователей и врачей-клиницистов до сих пор возникает немало вопросов – микоплазмы 108-110. Микоплазмы относят к обширному классу Mollicutes. Их отличительными чертами являются:

- малые размеры жизнеспособных частиц, близкие к размерам больших вирусов;
- отсутствие ригидной клеточной стенки и выраженный полиморфизм;
- мембранный тип паразитирования;
- размножение путём бинарного деления;
- наличие в клетках ДНК и РНК (в отличие от вирусов, имеющих только одну из нуклеиновых кислот);
- постоянно изменяющийся антигенный состав;
- способность вызывать иммунопатологические состояния у человека;

- способность к длительной персистенции в организме;
- рост микоплазм подавляют тетрациклины, макролиды, фторхинолоны, азалиды. Они устойчивы к антибиотикам, подавляющим синтез бактериальной клеточной стенки (пенициллины, рифампицины) [19,111].

Систематика микоплазм

- Царство *Procariotae*
- Отдел *Tenericutes*
- Семейство *Mycoplasmataceae*
- Класс *Mollicutes*
- Род *Mycoplasma*
- Род *Ureaplasma*

По тропности микоплазмы подразделяются на орофарингеальные и урогенитальные. У человека выявляют по крайней мере 11 различных видов: *M. hominis*, *M. genitalium*, *M. fermentas*, *M. orale*, *M. salivarium*, *M. pneumoniae*, *M. penetrans*, *M. spermatophilum*, *M. buccale*, *U. urealyticum* (*U. parvum*). Большинство из них являются комменсалами здоровых людей, но некоторые обладают патогенными свойствами [112,114].

Грибы рода *Candida* могут вести себя как абсолютный патоген и быть моновозбудителем вагинального кандидоза, который сочетается с гонореей, хламидиозом т.д. В то же время дрожжеподобные грибы могут вести себя как условный патоген и участвовать в полимикробных ассоциациях, вызывающих вагиниты и вагинозы [62,70]. В этом случае лечение только антимикотиками может не принести желаемого успеха [106].

В настоящее время выделяют 3 варианта присутствия дрожжеподобных грибов рода *Candida* в биоценозе влагалища:

1. Нормоценоз. У 10-15% женщин дрожжеподобные грибы находятся в незначительных количествах и не определяются при микроскопии мазка. У таких женщин нормальные показатели pH и соотношение сукцинат/лактат. При этом лактобациллы выявляют в значительных количествах (10^6 - 10^9 ГЭ/образец) [12].

2. Истинный кандидоз, когда грибы выступают в роли моно-возбудителя. При этом состоянии определяются нормальные показатели pH и соотношения сукцинат/лактат, значительные количества лактобактерий, отсутствие облигатно анаэробных бактерий. При всем этом определяется большие количества грибов рода *Candida* (более 10^4 ГЭ/образец)[4,113]..

3. Вариант вагиноза, когда примерно в 15-20% случаев определяется сочетание вагиноза и кандидоза. При этом показатели pH поднимаются до 6, резко меняется соотношение сукцинат/лактат, т.к. молочной кислоты становится очень мало. Лактобактерии определяются в незначительных количествах или они исчезают вовсе, грибы рода *Candida* присутствуют в количествах более 10^4 ГЭ/образец. Анаэробные микроорганизмы составляют от 20 до 80% от общей бактериальной массы [39,113].

При нормоценозе лечения обычно не требуется. При истинном кандидозе эффективным будет лечение антимикотиком, а в третьем случае не будет эффекта без применения антианаэробного препарата в сочетании с антимикотиком. [1]

В урогенитальном тракте могут быть выявлены безусловно-патогенные микроорганизмы, не являющиеся частью нормальной микрофлоры. К ним относят бактерии, простейшие и вирусы, в норме они отсутствуют в урогенитальном тракте. *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoea* и *Mycoplasma genitalium* – наличие этих микроорганизмов даже в небольших количествах вызывает серьезные заболевания. Оценка количества присутствующих микроорганизмов в данном случае практически не имеет клинического значения и при использовании прямых методов исследования предпочтение отдается качественным (ответ «ДА/НЕТ») методам с максимальной чувствительностью. На сегодняшний день наиболее целесообразным скрининговым методом выявления патогенной микрофлоры безусловно являются молекулярно-генетические методы, использующие технологию амплификации [65].

Возможности современной диагностики, в частности, развитие молекулярно-биологических методов исследований (полимеразной цепной

реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени), позволяют изучать сложные микробные сообщества, оценивая их количественный и качественный состав. ПЦР способна детектировать специфические фрагменты бактериальной ДНК даже в сложной смеси нуклеиновых кислот, что делает данную методику незаменимой при работе с урогенитальными мазками, мочой и другим биологическим материалом, полученным от человека.

Функции нормальной микрофлоры влагалища

В организме женщины поддержанию колонизационной резистентности влагалища способствует множество факторов, основные из них:

- способность нормофлоры и условно-патогенных микроорганизмов удерживаться на поверхности эпителиальных клеток;
- конкуренция микроорганизмов за место и пищевые субстраты;
- физиологическая десквамация и цитолиз поверхностных клеток эпителия влагалища;
- фагоцитоз с помощью макрофагов и полиморфно-ядерных лейкоцитов;
- продукция антимикробных субстанций (перекисей, короткоцепочных жирных кислот, трансферрина и опсонинов плазмы, усиливающих фагоцитарную активность клеток; лизоцима, обладающего антимикробной активностью, лизина, способствующего разрушению клеточной оболочки микроорганизмов);
- продукция стимуляторов иммуногенеза и индукция иммунного ответа и т.д. [41,42, 70].

1.3. Биоценоз влагалища женщин в постменопаузе.

Синтез гликогена клетками эпителия влагалища находится под контролем эстрогенов. Возрастные изменения эстрогенового статуса обуславливают морфологическую перестройку самого многослойного плоского эпителия и сопровождаются возрастными изменениями кровотока влагалищной стенки. Аналогичные изменения могут наблюдаться в ситуациях, спровоцированных

гипоэстрогенией любого генеза - медикаментозная аменорея, лактационная аменорея, кастрационная аменорея, гипофункцией яичников и тд.

Происходит кардинальное изменение среды обитания вагинальной микрофлоры. Наиболее чувствительны к этому изменению лактобактерии. Отсутствие гликогена, являющегося основным субстратом для лактобактерий, приводит к резкому снижению количества нормофлоры. Также снижается и общая обсемененность влагалища.

В постменопаузе по сравнению с группой здоровых женщин репродуктивного возраста происходит снижение ОБМ, уменьшение количества лактобактерий (в перименопаузе и постменопаузе количество лактобактерий снижается до нуля у трети женщин, еще у трети количество лактобактерий находится на уровне 10^2 – 10^3), возрастает влияние в биоценозе анаэробных микроорганизмов (*Gardnerella* и др.) Значения ОБМ снижаются до $10^{5,7}$ – $10^{6,9}$ ГЭ/мл. В вагинальном биоценозе идет замещение лактобактерий представителями облигатно-анаэробной флоры. При развитии атрофических процессов во влагалище количество бактерий снижается до $10^{4,1}$ - $10^{5,3}$ ГЭ/образец [11,12].

Из факультативно-анаэробных микроорганизмов снижается количество стафилококков, в то время, как количество стрептококков и энтеробактерий практически не изменяется. Также снижается количество практически всех групп облигатно-анаэробных микроорганизмов. Энтеробактерии в менопаузе не встречаются в количествах, превышающих 10^3 . В менопаузе по сравнению с репродуктивным возрастом достоверно увеличивается доля женщин, у которых обнаруживали *Eubacterium spp.* и *Gargnerella* в количестве 10^6 — 10^7 ГЭ/образец. Доля женщин с низким уровнем *Mobiluncus spp.* (10^2 – 10^3) увеличивается в менопаузе, что может быть связано с уменьшением ОБМ. *Clostridium spp.* и *Peptostreptococcus spp.* встречаются у большинства женщин в менопаузе в умеренных количествах (10^2 – 10^4). В менопаузе увеличивается доля женщин — носителей *Megashpaera spp.*, в том числе больше доля женщин, у которых *Megashpaera spp.* обнаружены в количестве до 10^6 ГЭ/образец. В перименопаузе и постменопаузе находки микроорганизмов родов микоплазма также редки, как и в

репродуктивном возрасте, а уреоплазма в количествах более 10^4 ГЭ/образец встречается у 7,5% женщин. У женщин в перименопаузе грибы рода *Candida* в количестве более 10^4 — 10^5 были обнаружены в 9,2% случаев, а в постменопаузе — в 7,6% случаев.

Таким образом, неприемлема интерпретация результатов оценки биоценоза влагалища у женщин старшей возрастной группы с позиции нормы, характерной для женщин репродуктивного возраста. Вероятно, в постменопаузе развиваются качественно иные, чем в репродуктивном возрасте, механизмы защиты урогенитального тракта от развития вторичной инфекции [12,116].

1.3. Влияние факторов внутренней (соматические заболевания) и внешней среды (лекарственная терапия) на биоценоз

Вагинальный биоценоз представляет собой сложную динамическую систему «макроорганизм-микроорганизмы», на которую в каждый отдельный момент времени влияет множество эндогенных и экзогенных факторов. Наиболее значимыми факторами являются возраст, репродуктивное поведение и акушерско-гинекологический анамнез, гормональный статус и его нарушения, использование заместительной гормональной терапии и комбинированных оральных контрацептивов (КОК), антибиотикотерапия, наличие экстрагенитальной патологии.

Это связано с тем, что на фоне урбанизации происходят значительные изменения в эволюционно сложившихся микробиоценозах человеческого организма. В последнее десятилетие во многих странах мира отмечен рост инфекций влагалища, которые по частоте занимают первое место в структуре акушерско_гинекологической патологии [66] .

Стало очевидным, что нормальная флора половых путей, обеспечивающая их защиту, при определенных условиях приобретает патогенные свойства. Это побуждает более пристально исследовать не только состояние влагалищного

биоценоза как потенциального резервуара возбудителей, но и экзогенные и эндогенные факторы, способствующие возникновению патологических состояний в этом биотопе.

Наиболее заметные изменения влагалищной флоры происходят в ответ на гормональные влияния [31]. Несмотря на то, что особенности влагалищной микросреды в разные фазы менструального цикла подробно описаны [94], в литературе содержатся лишь немногочисленные сведения об особенностях влагалищной флоры на фоне применения гормональных препаратов с целью лечения и контрацепции. Гормональные противозачаточные средства в настоящее время рассматриваются как эталон контрацепции. Наиболее широкое применение в этой группе препаратов нашли **комбинированные оральные контрацептивы** (КОК). По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в мире средствами гормональной контрацепции пользуются более 120 млн. женщин [3].

В России по данным официальной статистики гормональные контрацептивы принимают 8% женщин репродуктивного возраста, однако реально эта цифра в несколько раз выше [5].

В рекомендациях, разработанных по результатам клинических испытаний КОК, подчеркивается возможность их использования в качестве вспомогательного средства для лечения воспалительных заболеваний у женщин [5,40]. Прием КОК уменьшает частоту рецидивов хронических сальпингоофоритов приблизительно в 3 раза [5,40,71].

Наиболее вероятными механизмами, реализующими **защитный эффект оральных контрацептивов**, принято считать [24,33].

- повышение вязкости влагалищной слизи и снижение до минимума менструального отделяемого, что препятствует вертикальному инфицированию;
- уменьшение силы и частоты нормальных физиологических сокращений матки и ослабление за счет этого “присасывающего” эффекта;
- повышение активности комплемента в сыворотке крови;

- предотвращение нежелательных беременностей и абортов, ведущих к послеоперационной инфекции;
- улучшение регенерации эпителия, служащего механическим барьером для патогенов;
- увеличение содержания гликогена во влагалищном эпителии и, как следствие, повышение числа лактобацилл, конкурирующих с патогенами за субстрат.

Сведения о **прямом воздействии половых гормонов на микрофлору** единичны. Известно, что половые стероиды, регулирующие обменные процессы в организме, обладают антимикробным действием [10]. Исследуя популяционную изменчивость *Staphylococcus aureus*, Иванов Ю.Б. и др. [14] показали, что культивирование стафилококков с препаратами половых гормонов ведет к достоверному уменьшению антилизотимной активности и гетерогенности популяции стафилококков по этому признаку, что снижает адаптационные возможности бактериальной популяции. Однако в отношении других свойств микроорганизмов действие половых гормонов на популяцию стафилококков было неоднозначным: прогестерон обладал незначительным стимулирующим влиянием на их рост, а эстриол оказывал выраженный стабилизирующий эффект на развитие бактерий. Отмечено прямое влияние прогестерона на грибы рода *Candida*: *in vitro* он способствует инверсии псевдомицелия в дрожжевые клетки [84,88]. Эти данные свидетельствуют о роли стероидных половых гормонов в формировании микробиоценоза репродуктивной системы.

В современной литературе нет однозначных выводов о **влиянии гормональной контрацепции на развитие дисбиотических состояний влагалища** – бактериального вагиноза и кандидоза. Наиболее распространены мнения о том, что прием КОК является фактором риска развития **бактериального вагиноза** [56] или же не влияет на его возникновение [49,51]. Однако появились данные, что гормональные контрацептивы обладают протективным эффектом в отношении бактериального вагиноза [84]. Исследования, проводившиеся в Швеции, также показали, что молодые женщины, применявшие КОК, имели значительно меньшую частоту бактериального вагиноза, чем те, кто их не принимал [108].

Нельзя однозначно ответить на вопрос, как влияют КОК на возникновение и течение **кандидозного кольпита**. По результатам статистических исследований [63], несмотря на снижение процента женщин, пользующихся КОК, и увеличение числа использующих презервативы, частота бактериального вагиноза и кандидоза резко возросла. Это может свидетельствовать как о том, что КОК не играют значительной роли в возникновении дисбиозов влагалища, так и о том, что половой путь в их распространении не является основным. Большинство авторов считает, что КОК достоверно увеличивают частоту кандидоза [102,104].

Кроме того, предшествующий прием КОК является фактором риска возникновения кандидоза во время беременности [59] .

Однако ряд работ свидетельствует об обратном: среди женщин, употребляющих КОК, частота возникновения кандидозного кольпита не отличается от таковой в общей популяции [79]. Schmidt A. et al. подчеркивают, что нет доказательств высокой степени колонизации эпителия влагалища *Candida albicans* у пациенток, принимающих КОК [100]. Кроме того, не было найдено зависимости между длительностью приема КОК, типом контрацептивов (трехфазные или монофазные) и частотой выявления грибов *Candida*. Eschenbach D.A. et al. [62] отмечают, что КОК оказывают минимальный эффект на влагалищную флору, заключающийся в небольшом снижении числа пероксидообразующих лактобацилл и *Ureaplasma urealyticum* через 2 мес их использования.

Особенности вагинальной микрофлоры у женщин, использующих чистые прогестины пролонгированного действия, также нуждаются в дальнейшем изучении. Работ в этом направлении практически не проводилось, несмотря на то, что данный вид контрацепции является наименее физиологичным из всех гормональных методов. Известно только, что депомедроксипрогестерон снижает количество пероксидообразующих лактобацилл [86,87], а по другим данным [30], уменьшает риск развития кандидозного кольпита и других воспалительных заболеваний половых путей. У женщин, которым был имплантирован норплант, наблюдалась достоверно более высокая частота бактериального вагиноза и

обсемененность анаэробной флорой, которые, однако, встречались в 2 раза реже, чем при применении внутриматочной спирали [98,101,103].

Таким образом, гормональная контрацепция играет немаловажную роль в формировании влагалищной микрофлоры, и этот аспект необходимо учитывать при назначении контрацептивов пациенткам с сходными нарушениями вагинального микробиоценоза. [40].

1.4. Особенности терапии глюкокортикоидами

Глюкокортикоиды. Описание фармакологической группы

Глюкокортикоиды — стероидные гормоны, синтезируемые корой надпочечников.

Начало применения глюкокортикоидов в качестве лекарственных средств (ЛС) относится к 40-м гг. XX века.

Глюкокортикоидные препараты обладают разносторонним действием на организм, многие элементы которого до конца не выяснены. Высокая биологическая активность глюкокортикоидов позволяет использовать их в наиболее тяжелых клинических ситуациях. Нередко они включаются в комплекс экстренных мер помощи при неотложных состояниях. Тем не менее, многие аспекты применения глюкокортикоидов остаются спорными. [36.37]

Основным и наиболее активным глюкокортикоидом, образующимся в организме человека, является гидрокортизон (кортизол), другие, менее активные, представлены кортизоном, кортикостероном, 11-дезоксикортизолом, 11-дегидрокортикостероном.

Выработка гормонов надпочечников находится под контролем ЦНС и тесно связана с функцией гипофиза. Адrenокортикотропный гормон гипофиза (АКТГ, кортикотропин) является физиологическим стимулятором коры надпочечников. Кортикотропин усиливает образование и выделение глюкокортикоидов. Последние, в свою очередь, влияют на гипофиз, угнетая выработку кортикотропина и уменьшая, таким образом, дальнейшую стимуляцию надпочечников (по принципу отрицательной обратной связи). Длительное

введение в организм глюкокортикоидов (кортизона и его аналогов) может привести к угнетению и атрофии коры надпочечников, а также к угнетению образования не только АКТГ, но и гонадотропных и тиреотропного гормонов гипофиза.

Практическое применение в качестве ЛС из естественных глюкокортикоидов нашли кортизон и гидрокортизон. Кортизон, однако, чаще, чем другие глюкокортикоиды, вызывает побочные явления и, в связи с появлением более эффективных и безопасных препаратов в настоящее время имеет ограниченное применение. В медицинской практике используют естественный гидрокортизон или его эфиры (гидрокортизона ацетат и гидрокортизона гемисукцинат).

Синтезирован целый ряд синтетических глюкокортикоидов, среди которых выделяют нефторированные (преднизон, преднизолон, метилпреднизолон) и фторированные (дексаметазон, бетаметазон, триамцинолон, флуметазон и др.) глюкокортикоиды. Эти соединения, как правило, более активны, чем природные глюкокортикоиды, действуют в меньших дозах. Действие синтетических стероидов сходно с действием природных кортикостероидов, но они обладают различным соотношением глюкокортикоидной и минералокортикоидной активности. Более благоприятным соотношением между глюкокортикоидной/противовоспалительной и минералокортикоидной активностью отличаются фторированные производные. Так, противовоспалительная активность дексаметазона (по сравнению с таковой гидрокортизона) выше в 30 раз, бетаметазона — в 25–40 раз, триамцинолона — в 5 раз, при этом влияние на водно-солевой обмен минимально. Фторированные производные отличаются не только высокой эффективностью, но и низкой абсорбцией при местном применении, т.е. меньшей вероятностью развития системных побочных эффектов.

Механизм действия глюкокортикоидов на молекулярном уровне до конца не выяснен. Считают, что действие глюкокортикоидов на клетки-мишени осуществляется, главным образом, на уровне регуляции транскрипции генов. Оно

опосредуется взаимодействием глюкокортикоидов со специфическими глюкокортикоидными внутриклеточными рецепторами (альфа-изоформа). Эти ядерные рецепторы способны связываться с ДНК и относятся к семейству лиганд-чувствительных регуляторов транскрипции. Рецепторы глюкокортикоидов обнаружены практически во всех клетках. В разных клетках, однако, количество рецепторов варьирует, они также могут различаться по молекулярной массе, сродству к гормону и другим физико-химическим характеристикам. При отсутствии гормона внутриклеточные рецепторы, которые представляют собой цитозольные белки, неактивны и входят в состав гетерокомплексов, включающих также белки теплового шока (heat shock protein, Hsp90 и Hsp70), иммунофилин с молекулярной массой 56000 и др. Белки теплового шока способствуют поддержанию оптимальной конформации гормоносвязывающего домена рецептора и обеспечивают высокое сродство рецептора к гормону[22].

После проникновения через мембрану внутрь клетки глюкокортикоиды связываются с рецепторами, что приводит к активации комплекса. При этом олигомерный белковый комплекс диссоциирует — отсоединяются белки теплового шока (Hsp90 и Hsp70) и иммунофилин. В результате этого рецепторный белок, входящий в комплекс в виде мономера, приобретает способность димеризоваться. Вслед за этим образовавшиеся комплексы «глюкокортикоид + рецептор» транспортируются в ядро, где взаимодействуют с участками ДНК, расположенными в промоторном фрагменте стероид-отвечающего гена — т.н. глюкокортикоид-отвечающими элементами (glucocorticoid response element, GRE) и регулируют (активируют или подавляют) процесс транскрипции определенных генов (геномный эффект). Это приводит к стимуляции или супрессии образования м-РНК и изменению синтеза различных регуляторных белков и ферментов, опосредующих клеточные эффекты.

Исследования последних лет показывают, что ГК-рецепторы взаимодействуют, кроме GRE, с различными факторами транскрипции, такими как активаторный белок транскрипции (AP-1), ядерный фактор каппа В (NF-kB) и др. Показано, что ядерные факторы AP-1 и NF-kB являются регуляторами

нескольких генов, принимающих участие в иммунном ответе и воспалении, включая гены цитокинов, молекул адгезии, протеиназ и др.[7,8,35].

Кроме того, недавно открыт еще один механизм действия глюкокортикоидов, связанный с влиянием на транскрипционную активацию цитоплазматического ингибитора NF-kB — I κ B α . [22,37].

Однако ряд эффектов глюкокортикоидов (например быстрое ингибирование глюкокортикоидами секреции АКТГ) развиваются очень быстро и не могут быть объяснены экспрессией генов (т.н. внегеномные эффекты глюкокортикоидов). Такие свойства могут быть опосредованы нетранскрипторными механизмами, либо взаимодействием с обнаруженными в некоторых клетках рецепторами глюкокортикоидов на плазматической мембране. Полагают также, что эффекты глюкокортикоидов могут реализовываться на разных уровнях в зависимости от дозы. Например, при низких концентрациях глюкокортикоидов ($>10^{-12}$ моль/л) проявляются геномные эффекты (для их развития требуется более 30 мин), при высоких — внегеномные [35].

Глюкокортикоиды вызывают множество эффектов, т.к. оказывают влияние на большинство клеток организма [36,37].

Основные эффекты

Водно-электролитный обмен

Замедление выделения из организма натрия и воды за счет увеличения реабсорбции в дистальном отделе почечных канальцев. Усиление выведения калия. Эти минералокортикоидные эффекты в большей степени присущи природным глюкокортикоидам (кортизону и гидрокортизону), в меньшей — полусинтетическим (преднизону, преднизолону, метилпреднизолону). У фторированных препаратов — триамцинолона, дексаметазона и бетаметазона — минералокортикоидная активность отсутствует.

Углеводный обмен

Стимуляция глюконеогенеза в печени, уменьшение проницаемости мембран для глюкозы, гипергликемия, глюкозурия вплоть до развития стероидного

диабета. Таким образом, глюкокортикоиды являются контринсулярными гормонами.

Белковый обмен

Угнетение синтеза белка, усиление процессов катаболизма, особенно в коже, в мышечной и костной тканях. Это проявляется похуданием, мышечной слабостью, атрофией кожи и мышц, стриями, кровоизлияниями, замедлением заживления ран. Как следствие распада белкового матрикса костей и гипокальциемии развивается остеопороз.

Жировой обмен

Перераспределение подкожной жировой клетчатки по кушингоидному типу вследствие того, что в тканях конечностей преобладает липолиз, а в тканях груди, шеи, лица, плечевого пояса – липогенез.

Обмен кальция

Глюкокортикоиды угнетают всасывание кальция в кишечнике, способствуют выходу кальция из костной ткани и усиливают его почечную экскрецию. В результате могут развиваться гипокальциемия и гиперкальциурия.

Сердечно-сосудистая система

Глюкокортикоиды повышают чувствительность адренорецепторов к катехоламинам, усиливают прессорное действие ангиотензина-II. Они уменьшают проницаемость капилляров, поддерживают нормальный тонус артериол, сократимость миокарда. Недостаточность коры надпочечников характеризуется низким сердечным выбросом, расширением артериол, слабой реакцией на адреналин. В сочетании с гиповолемией, вызванной дефицитом минералокортикоидов, эти изменения могут вести к сосудистому коллапсу.

Противовоспалительное действие

Глюкокортикоиды угнетают все фазы воспаления, независимо от вызвавшей его причины. В их противовоспалительном действии играют роль многие факторы. Одним из ведущих является ингибирование фосфолипазы-A2 и связанное с этим нарушение образования простагландинов и лейкотриенов. Глюкокортикоиды стабилизируют клеточные мембраны, мембраны лизосом,

уменьшают проницаемость капилляров, тормозят миграцию нейтрофилов и макрофагов в очаг воспаления и их фагоцитарную активность, угнетают пролиферацию фибробластов и синтез коллагена.

Иммуномодулирующее и противоаллергическое действие

Глюкокортикоиды угнетают пролиферацию лимфоидной ткани и клеточный иммунитет, что лежит в основе их применения при пересадке органов и тканей. Глюкокортикоиды тормозят образование и нарушают кинетику Т-лимфоцитов (в большей степени Т-хелперов, чем Т-супрессоров), снижают их цитотоксическую активность. В-лимфоциты более устойчивы к действию глюкокортикоидов, но введение высоких доз метилпреднизолонa ведет к снижению концентрации иммуноглобулинов, что связано с первоначальным усилением их катаболизма и последующим торможением синтеза. В то же время, у больных с иммунодефицитом Глюкокортикоиды снижают супрессорную активность лимфоцитов, восстанавливая тем самым уровень иммуноглобулинов. Глюкокортикоиды препятствуют взаимодействию иммуноглобулинов с тучными клетками, макрофагами, ингибируя высвобождение из них биологически активных веществ.

В последние годы выявлена способность глюкокортикоидов влиять на систему цитокинов, синтез которых моноцитами и макрофагами имеет важное значение для иммунорегуляции и развития воспаления. Глюкокортикоиды подавляют выработку так называемых "провоспалительных" цитокинов (интерлейкины 1, 6 и 8, фактор некроза опухолей), которые участвуют в механизмах иммунного ответа, влияя, в частности, на Т-клеточное распознавание антигенов. Этим цитокинам отводят большую роль в патогенезе ревматических заболеваний, бактериального менингита.

Кровь

Глюкокортикоиды вызывают лимфоцитопению, моноцитопению и эозинопению. В то же время, они стимулируют образование эритроцитов и тромбоцитов [8]

При интерпретации анализа крови следует учитывать, что после приема даже одной дозы глюкокортикоидов отмечается снижение уровня лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов с одновременным развитием нейтрофильного лейкоцитоза и, возможно, небольшим сдвигом формулы влево. Число нейтрофилов в среднем повышается на 4000/мм³ (1700-7500/мм³). Максимум изменений в крови отмечается через 4-6 часов, восстановление исходного состояния - через 24 часа. После завершения длительного курса глюкокортикоидной терапии изменения картины крови сохраняются на протяжении 1-4 недель.

Эндокринная система

Отмечается угнетение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, обусловленное механизмом отрицательной обратной связи. Оно более выражено при длительном применении глюкокортикоидов и/или использовании препаратов, обладающих продолжительным действием.

Кроме того, глюкокортикоиды вызывают **снижение выработки половых гормонов**, которое является результатом прямого ингибирования их синтеза и уменьшения продукции лютеинизирующего гормона гипофиза. Уменьшение уровня половых гормонов рассматривается как один из факторов развития глюкокортикоидного остеопороза.

Осложнения терапии глюкокортикоидами.

Глюкокортикоиды сравнивают с обоюдоострым мечом [7]. С одной стороны, они являются препаратами, обладающими мощной терапевтической активностью, которые позволяют быстро добиться положительной динамики состояния пациента, например, уменьшения болей при выраженном суставном синдроме, а с другой, - многочисленные нежелательные реакции являются причиной обращения к глюкокортикоидам тогда, когда исчерпаны возможности терапии другими лекарственными средствами.

При системной терапии глюкокортикоидов в фармакологических дозах нежелательные реакции могут включать изменения со стороны многих органов и

систем (табл 1.). Риск их появления, как правило, повышается с увеличением доз и длительности применения глюкокортикоидов. В зависимости от частоты, условий возникновения и, следовательно, клинической значимости, нежелательные реакции, обусловленные системным применением глюкокортикоидов, подразделяются на несколько групп (табл 2.).

Таблица 1 . Нежелательные реакции при использовании глюкокортикоидов

Костно-мышечная система: • миопатия • остеопороз • патологические переломы • компрессионные переломы позвонков • асептический некроз головки бедренной кости	Желудочно-кишечный тракт: • стероидные язвы желудка и кишечника • кровотечения, перфорации • эзофагит • диспепсия • панкреатит
Кожа: • кровоизлияния • угри • стрии • истончение кожи • атрофия кожи и подкожной клетчатки при в/м введении (наиболее опасно введение в дельтовидную мышцу)	Эндокринная система: • задержка полового созревания • угнетение ГГНС* • замедление роста у детей • нарушение менструального цикла (вторичная аменорея) • стероидный диабет, манифестация латентного диабета
Регенерация: • нарушение заживления ран	Сердечно-сосудистая система: • гипертензия
Центральная нервная система: • неустойчивое настроение • психоз • синдром псевдо опухоли мозга	Водно-электролитный обмен: задержка натрия и воды гипокалиемия отеки гиперосмолярная кома
Глаза:	Иммунитет:

• глаукома • задняя субкапсулярная катаракта • экзофтальм	• "смазывание" клинической картины инфекций • активизация туберкулеза и иных инфекций
Метаболические: • гипергликемия • гиперлипидемия • повышение аппетита • кушингоидный синдром • отрицательный азотистый баланс	

* ГГНС - гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система

Таблица 2. Время и условия возникновения нежелательных реакций при использовании глюкокортикоидов (По Voumpas D.T. и соавт., 1993)

В начале лечения (как правило, невозможно избежать)	• Нарушения сна • Эмоциональная лабильность • Повышение аппетита • Повышение массы тела
У больных, относящихся к группам риска, и при сопутствующем применении других препаратов	• Гипертензия • Гипергликемия (вплоть до развития диабета) • Ульцерогенный эффект • Угревая сыпь
При поддерживающей или интенсивной терапии (риск снижается при использовании минимальных доз и щадящих режимов)	• Кушингоидный синдром • Угнетение ГГНС* • Инфекционные осложнения • Остеонекроз • Миопатия • Нарушение заживления ран
(возможно, дозозависимые)	• Остеопороз • Атрофия кожи катаракта • Атеросклероз • Задержка роста • Жировое перерождение печени
Редкие и непредсказуемые осложнения	• Психоз

	• Синдром псевдоопухоли мозга • Глаукома • Эпидуральный липоматоз • Панкреатит
--	---

* ГГНС – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система

Инфекционные осложнения терапии глюкокортикоидами

Инфекционным осложнениям (бактериальным, вирусным, грибковым, паразитарным) особенно подвержены больные с исходными нарушениями иммунитета. При их развитии, помимо проведения специфической терапии, необходимо попытаться снизить дозы глюкокортикоидов или перевести больного на альтернирующую терапию [7,8,35].

Бактериальные инфекции возникают наиболее часто. Проявляются, как правило, в форме пневмонии или септицемии. Основными возбудителями являются стафилококки и грам(-) бактерии кишечной группы. Это надо иметь в виду при выборе эмпирической антибактериальной терапии.

Туберкулез. Больные с положительными туберкулиновыми реакциями подвержены риску развития тяжелой формы туберкулеза, поэтому при длительной терапии глюкокортикоидами они должны с профилактической целью получать изониазид.

Вирусные инфекции. Применение глюкокортикоидов повышает риск диссеминации вирусных инфекций, отмечены случаи смерти от ветряной оспы и других герпетических инфекций. Поэтому при контакте с больным ветряной оспой или опоясывающим лишаем пациент, ранее не болевший ими, в течение 48 часов должен получить специфический иммуноглобулин. При развитии этих инфекций следует провести лечение ацикловиром внутривенно в течение 7 дней.

Если курс терапии глюкокортикоидов превышает 2 недели, то у таких больных не рекомендуется применять живые вирусные вакцины.

Вторичная надпочечниковая недостаточность

К наиболее тяжелым осложнениям терапии глюкокортикоидов, потенциально опасным для жизни, относится вторичная надпочечниковая недостаточность, которая является следствием угнетения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при длительном применении глюкокортикоидов, особенно при несоблюдении принципов длительного их назначения.

Факторы риска угнетения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [35, 37].

Доза. При приеме глюкокортикоидов в физиологических дозах (у взрослого 2,5-5 мг/сутки преднизолона или 10-30 мг/сутки гидрокортизона) угнетения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы не происходит. Если используются более высокие дозы, то уже через 1-2 недели отмечается функциональное угнетение коры надпочечников, а в дальнейшем развивается ее атрофия. Причем, полное восстановление функции коры надпочечников при курсе глюкокортикоидов 2-3 недели происходит только через 6-12 месяцев.

Длительность курса. При курсе глюкокортикоидов до 10 дней (в дозе не более 40 мг преднизолона в сутки) нет опасности значительного угнетения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, при приеме глюкокортикоидов в течение нескольких недель может возникнуть атрофия коры надпочечников.

Клиника синдрома "отмены" глюкокортикоидов

Тяжесть синдрома "отмены" зависит от степени сохранности функции коры надпочечников. В легких случаях у больных после отмены глюкокортикоидов появляются слабость, недомогание, быстрая утомляемость, потеря аппетита, мышечные боли, обострение основного заболевания, повышение температуры. В тяжелых случаях, особенно при больших стрессах, может развиваться классический аддисонический криз, сопровождающийся рвотой, коллапсом, судорогами. Без введения глюкокортикоидов больные быстро погибают от острой сердечно-сосудистой недостаточности.

Модификация действия глюкокортикоидов

Лекарственные факторы

Повышение активности глюкокортикоидов отмечается при сопутствующем назначении эритромицина (замедляет метаболизм глюкокортикоидов в печени), салицилатов (увеличение не связанной с белками фракции глюкокортикоидов), эстрогенов.

Ослабление эффекта глюкокортикоидов наблюдается при параллельном приеме индукторов микросомальных ферментов печени – фенобарбитала, дифенина, рифампицина и других. Наряду с модификацией действия глюкокортикоидов под влиянием других лекарственных средств следует помнить, что глюкокортикоиды сами могут изменять активность ряда лекарств:

- ослабляют действие антикоагулянтов, антидиабетических и антигипертензивных лекарственных средств;
- усиливают действие теофиллина, симпатомиметиков, иммуносупрессантов, нестероидных противовоспалительных средств.

Нелекарственные факторы

Повышение активности глюкокортикоидов с возрастанием опасности развития нежелательных реакций отмечается при гипоальбуминемии, острых заболеваниях печени, гипотиреозе, повышении уровня эстрогенов.

Снижение активности глюкокортикоидов наблюдается при гипертиреозе.

Общие показания к назначению глюкокортикоидов

Существует три принципиально различных вида глюкокортикоидной терапии.

Заместительная терапия

Применение глюкокортикоидов при надпочечниковой недостаточности любой этиологии, когда используют физиологические дозы глюкокортикоидов. Для заместительной терапии хронической надпочечниковой недостаточности глюкокортикоиды могут применяться в течение всей жизни. При этом кортизон или гидрокортизон вводятся с учетом циркадного ритма – 2/3 дозы утром и 1/3 вечером. Другие глюкокортикоиды принимают один раз в день утром.

Супрессивная терапия

Применение глюкокортикоидов при адреногенитальном синдроме в фармакологических (супрафизиологических) дозах, что ведет к подавлению секреции адренокортикотропного гормона и последующему снижению гиперсекреции андрогенов корой надпочечников. В этом случае только 1/3 суточной дозы кортизона или гидрокортизона дается утром, а 2/3 дозы вечером. Другим вариантом является назначение глюкокортикоидов равными дозами 3 раза в день.

Фармакодинамическая терапия

Представляет собой наиболее частый вариант использования глюкокортикоидов, которые при этом также назначают в фармакологических дозах. Фармакодинамическая терапия подразделяется на системную и местную. При системной терапии следует учитывать два принципиальных положения:

- глюкокортикоиды назначают в расчете на их противовоспалительное, противоаллергическое, иммуносупрессивное, противошоковое и противорвотное действие;
- при большинстве заболеваний глюкокортикоиды вызывают симптоматическое улучшение и не влияют на первопричину заболевания, то есть лечение глюкокортикоидными препаратами не является этиотропным.

При проведении системной фармакодинамической терапии могут быть использованы различные пути введения и режимы дозирования глюкокортикоидов в зависимости от тяжести состояния больного (табл 3.).

Таблица 3. Режимы дозирования глюкокортикоидов при системной фармакодинамической терапии (Applied Therapeutics, 1995)

Режим дозирования	Показания	Комментарий	Эффективность	Нежелательные реакции
Внутрь, низкая доза (<10 мг реднизолона) 1 раз в день	Поддерживающая терапия	Физиологическая доза, ослабление симптомов заболевания	+	+

Средняя доза (>10 мг преднизолона), альтернирующая схема (через день)	Заболевания легкой и средней тяжести; поддерживающая терапия	Более редкое развитие нежелательных реакций (НР) меньшее подавление гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы	++	+
Умеренная/высокая доза один раз в день	Контроль активности заболевания	Хороший эффект при многих ревматических заболеваниях; меньше НР, чем при разделении на несколько приемов	++	++
Умеренная/высокая доза в несколько приемов	Быстрый контроль активности заболевания	Большой эффект, чем при однократном приеме эквивалентной дозы	+++	+++
"Мини-пульс" (100-200 мг преднизолона в течение 2-5 дней)	Быстрый контроль активности тяжелого заболевания	Более быстрый эффект; возможность последующего использования низкой поддерживающей дозы	+++	++
Внутримышечно депо-глюкокортикоиды	Ограниченное использование	Временное улучшение состояния	++	++
Внутривенно пульс-терапия	Неотложная терапия тяжелых, угрожающих жизни заболеваний	Быстрый эффект; возможность последующего использования низкой поддерживающей дозы	++++	++++

Противопоказания

Противопоказания для назначения глюкокортикоидов являются только относительными и должны приниматься во внимание при планировании длительной терапии. В неотложных ситуациях глюкокортикоиды вводят без учета противопоказаний.

К относительным противопоказаниям к назначению глюкокортикоидов следует относить:

- Сахарный диабет (особенно опасны фторированные глюкокортикоиды)
- Психические заболевания, эпилепсию
- Язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки
- Выраженный остеопороз
- Тяжелую артериальную гипертензию
- Тяжелую сердечную недостаточность

Принципы длительной терапии

1. Назначать глюкокортикоиды только тогда, когда не достигнут терапевтический эффект при лечении другими, менее активными лекарственными средствами. Исключение составляют надпочечниковая недостаточность, адреногенитальный синдром, опасные для жизни заболевания.
2. Начинать с наименьшей эффективной дозы глюкокортикоидов, которую при необходимости можно увеличить до получения желаемого эффекта.
3. Подбирать дозу глюкокортикоидов индивидуально, больше в зависимости от характера заболевания, реакции больного на лечение, чем от возраста или массы тела.
4. После получения желаемого эффекта дозу следует постепенно снижать до минимальной, при которой сохраняется клинический эффект.

5. Использовать глюкокортикоиды средней продолжительности действия.
6. Принимать глюкокортикоиды с учетом циркадного ритма, можно один раз в сутки.
7. При стабилизации состояния больного переходить на альтернирующую терапию.

Хронотерапевтический подход

Учитывая циркадный физиологический ритм выделения глюкокортикоидов, при постоянном лечении нельзя делить суточную дозу глюкокортикоидов на 3-4 части и принимать через равные промежутки времени, так как при этом возрастает риск угнетения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В то же время, прием глюкокортикоидов в утренние часы снижает опасность угнетения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [57] и развития остеопороза, поскольку утром гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система наименее чувствительна к супрессивному действию экзогенных глюкокортикоидов [93].

В большинстве случаев препараты глюкокортикоидов следует принимать в виде одной утренней дозы, что особенно касается препаратов длительного действия. Вторым вариантом является прием большей части препарата (2/3-3/4) утром и оставшейся меньшей части около полудня.

Альтернирующая терапия

Альтернирующая терапия может быть использована у больных, которым планируется длительный курс глюкокортикоидов внутрь. Альтернирующая терапия заключается в назначении препарата через день в виде одной дозы. Эта доза должна быть в 2 раза больше той, которая использовалась до перевода на альтернирующую терапию.

Преимущества альтернирующей терапии:

- меньшее подавление гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, снижение риска развития надпочечниковой недостаточности;
- снижение риска развития инфекционных осложнений;

- уменьшение задержки роста у детей.

Необходимо отметить, что альтернирующая терапия не уменьшает риск развития остеопороза [93].

Переход с ежедневного приема на альтернирующую терапию должен быть постепенным и только после стабилизации состояния больного. Однако при ряде заболеваний, например, нефротическом синдроме у детей, лечение может быть сразу начато с альтернирующей терапии.

Для альтернирующей терапии пригодны только глюкокортикоиды средней продолжительности действия (преднизолон, метилпреднизолон, преднизон), после приема одной дозы которых гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система подавляется на 12-36 часов. Нельзя использовать глюкокортикоиды длительного действия (триамцинолон, дексаметазон, бетаметазон), так как даже при их назначении через день риск угнетения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы не уменьшается. Природные глюкокортикоиды (кортизон и гидрокортизон), обладающие выраженным минералокортикоидным действием, как уже рассматривалось выше, применяются, в основном, для заместительной терапии.

Альтернирующая терапия недостаточно эффективна при лечении гематологических заболеваний, язвенного колита, злокачественных опухолей, при тяжелых состояниях. Иногда у больных бронхиальной астмой, ревматоидным артритом может отмечаться обострение симптомов заболевания на второй "безгормональный" день. В этих случаях можно увеличить дозу препарата, принять небольшую дополнительную дозу на второй день или, при бронхиальной астме, назначить ингаляционные глюкокортикоиды

Пульс-терапия

Пульс-терапия заключается в назначении сверхвысоких доз глюкокортикоидов на короткий срок. Наиболее часто используется метилпреднизолон, который в виде натрия сукцината вводят в дозе 1-2 г внутривенно капельно за 30-60 минут один раз в день в течение 3-5 дней. Максимальная концентрация препарата в крови

развивается через 1 час с последующим снижением в течение 6-7 часов. Метилпреднизолон накапливается в различных тканях, причем больше в воспаленных, чем нормальных (в том числе, в головном мозге), а также в эритроцитах. С учетом особенностей распределения, минимального минералокортикоидного действия, более слабого, по сравнению с преднизолоном, влияния на желудочно-кишечный тракт и центральную нервную систему, метилпреднизолон считается препаратом выбора при проведении пульс-терапии.

Показаниями к пульс-терапии являются тяжелые и опасные для жизни заболевания, прежде всего, системные коллагенозы (табл 4.).

Таблица 4. Показания к проведению пульс-терапии глюкокортикоидами.

Ревматология	• Анкилозирующий спондилит (тяжёлое рефрактерное течение). • Васкулиты. • Волчаночный нефрит. • Полимиозит/дерматомиозит. • Ревматоидный артрит (при наличии тяжёлых васкулитов или висцеральных поражений, острейший суставной синдром) • Системная красная волчанка без поражения почек (эффективный метод купирования лихорадки, артралгий, серозита, миозита, гематологических нарушений, поражений центральной нервной системы).
Неврология	• Острый неврит зрительного нерва. • Острая травма спинного мозга. • Рассеянный склероз.
Гематология	• Тромбоцитопеническая пурпура.
Трансплантология	• Реакция отторжения трансплантата.

Серьезные нежелательные реакции при пульс-терапии встречаются довольно редко (табл 5.).

Таблица 5. Нежелательные реакции пульстерапии метилпреднизолоном (По Насонову Е.Л. и соавт., 1994)

Частые	Редкие
• Гиперемия лица • Изменения вкуса • Транзиторное повышение АД • Транзиторная гипергликемия • Артрит, артралгии • Миалгии	• Некупирующаяся икота • Анафилактические реакции • Коллапс • Неврологический нарушения (судороги, галлюцинации, головные боли, тошнота) • Диссеминация инфекции • Внезапная смерть*

* Причина - аритмии вследствие электролитных нарушений (запрещается одновременное применение фуросемида)

Особенности применения при некоторых заболеваниях и синдромах

Ревматологические заболевания.

Глюкокортикоиды имеют прочное место в ревматологии и являются наиболее мощными и универсальными противовоспалительными препаратами, обладающими, кроме того, и выраженной иммуномодулирующей активностью. Именно благодаря им был достигнут значительный прогресс в лечении большинства ревматических заболеваний, прежде всего системной красной волчанки. При таких заболеваниях, как системная склеродермия, системные васкулиты, ревматическая полимиалгия, дерматомиозит/полимиозит, гигантоклеточный артериит, эозинофильный фасциит, глюкокортикоиды являются средствами первого ряда.

У больных системной красной волчанкой, в зависимости от проявлений заболевания и его тяжести, глюкокортикоиды могут назначаться как системно, так и местно.

У больных ревматоидным олигоартритом альтернативой пероральному приему глюкокортикоидов может быть их внутрисуставное введение, при котором препарат практически не всасывается в кровь и риск системных нежелательных реакций минимален.

В последние годы появились данные об успешном применении пульс-терапии метилпреднизолоном, которая позволяет добиться быстрого эффекта и снизить поддерживающие дозы для приема внутрь.

Отек мозга.

Глюкокортикоиды предотвращают и ослабляют выраженность вазогенного отека мозга, который развивается при опухолях мозга, некоторых инфекциях (абсцесс мозга, бактериальный менингит). При этом типе отека первичным является повышение проницаемости гемато-энцефалического барьера, в результате чего происходит проникновение во внеклеточное пространство осмотически активных веществ и воды. Эффект глюкокортикоидов обусловлен их стабилизирующим влиянием на мембраны клеток эндотелия сосудов мозга. Наиболее эффективными препаратами при вазогенном отеке мозга являются дексаметазон, бетаметазон и метилпреднизолон.

Однако глюкокортикоиды неэффективны при клеточном (цитотоксическом) отеке мозга, где первичным является повреждение клеток мозга. Этот тип отека характерен для ишемическо-гипоксических поражений мозга (асфиксия, тромбоз, кровоизлияние, эмболия и другие). В контролируемых исследованиях показана неэффективность дексаметазона у больных с супратенториальными внутримозговыми кровоизлияниями, ишемическим инсультом, травмой. В то же время, достоверно возросло число осложнений (инфекции, кровотечения из желудочно-кишечного тракта, гипергликемия).

Бронхиальная астма.

Эффект глюкокортикоидов при бронхиальной астме обусловлен двумя факторами: подавлением в бронхах аллергического воспаления и повышением

чувствительности бета2-рецепторов бронхов к симпатомиметикам и катехоламинам.

При обострении бронхиальной астмы на любой ступени лечения рекомендуется назначать так называемый "спасительный" курс глюкокортикоидов внутрь.

Показания к проведению "спасительного" курса:

- прогрессивное ухудшение состояния больного и снижение объема форсированного выдоха за 1 секунду;
- снижение объема форсированного выдоха за 1 секунду ниже 60% от нормы;
- нарушение сна, вызванное бронхиальной астмой;
- сохранение утренних симптомов на протяжении дня;
- снижение эффективности ингаляционных бронхолитиков;
- необходимость введения стационарного ингалятора или инъекций.

Схема проведения "спасительного" курса: 30-60 мг/сутки преднизолона (или эквивалентная доза другого препарата) в виде однократного приема в течение 2 дней, в последующие дни при стабилизации состояния – снижение дозы и отмена. Детям – 1-2 мг/кг в течение 1-5 дней, не снижая дозу.

Необходимо учитывать следующие особенности применения глюкокортикоидов у больных бронхиальной астмой:

1. При тяжелом приступе бронхиальной астмы глюкокортикоиды следует применять как можно раньше, так как они предотвращают внезапную смерть, снижают вероятность рецидива. В таких случаях более безопасно для больного получить "излишнюю" терапию глюкокортикоидами, чем подвергнуться риску развития потенциально фатального астматического приступа;
2. При тяжелом приступе бронхиальной астмы необходимо вводить внутривенно быстродействующий глюкокортикоид (преднизолона фосфат, гидрокортизона гемисукцинат и другие). Если нет возможности

парентерального введения, больной должен принять глюкокортикоид внутрь;

3. Эффект глюкокортикоидов отмечается только через 1-2 часа после их внутривенного введения. Поэтому необходимо комбинировать глюкокортикоиды с бета2-стимуляторами и/или аминофиллином (эуфиллином);
4. Ингаляционные глюкокортикоиды (беклометазона дипропионат и другие) являются средством профилактики приступов бронхиальной астмы (см. ниже), они способствуют снижению дозы системных глюкокортикоидов или вообще позволяют обойтись без их назначения. При обострении бронхиальной астмы перед назначением ингаляционного глюкокортикоида можно провести короткий (5-7 дней) курс глюкокортикоидов внутрь.

Инфекции.

Необходимость применения глюкокортикоидов при инфекциях возникает в тех ситуациях, когда чрезмерно выраженные иммунные реакции могут скорее усугубить имеющийся патологический процесс, чем привести к его разрешению. Несмотря на частое назначение глюкокортикоидов при тяжелых формах инфекций, их эффект объективно доказан только при ограниченном числе инфекционных заболеваний. Эти данные были обобщены Американским обществом по инфекционным болезням в 1992 году [78].

При пневмоцистной пневмонии (у больных со СПИДом) глюкокортикоиды, применяемые в первые 72 часа от начала введения антибиотиков, значительно ослабляют воспаление, улучшают оксигенацию, снижают частоту развития дыхательной недостаточности и смертности.

При туберкулезном перикардите назначение глюкокортикоидов ведет к быстрому улучшению состояния больных и снижению летальности.

При туберкулезном менингите глюкокортикоиды уменьшают риск развития осложнений, в частности, гидроцефалии. Дексаметазон в этом случае вводится

внутримышечно в дозе 12 мг/день взрослым и 8 мг/день детям с массой тела менее 25 кг в течение 3 недель с постепенной отменой в последующие 3 недели.

При тифозной лихорадке глюкокортикоиды снижают смертность больных с шоком (дексаметазон: первая доза – 3 мг/кг, далее восемь доз по 1 мг/кг каждые 6 часов, внутривенно).

Терапевтический эффект глюкокортикоидов также подтвержден при столбняке, инфекционном мононуклеозе с прогрессирующей бронхообструкцией, гнойном менингите (особенно вызванном *Haemophilus influenzae*), тяжелых формах ларинготрахеобронхита ("ложный круп"), аллергическом бронхолегочном аспергиллезе.

Эффект глюкокортикоидов не доказан при церебральных формах малярии, вирусном бронхиолите, остром вирусном гепатите, хроническом гепатите В, септическом шоке, herpes zoster.

В любом другом случае к необходимости использования глюкокортикоидов необходимо подходить индивидуально, принимая во внимание соотношение возможной пользы и риска от их применения.

Бактериальный менингит.

В многочисленных контролируемых исследованиях доказана эффективность короткого курса дексаметазона при бактериальном менингите у детей, вызванном *Haemophilus influenzae*, и, возможно, *Streptococcus pneumoniae*. Дексаметазон снижает летальность, способствует быстрому уменьшению лихорадки, купирует отек мозга и улучшает неврологический прогноз, включая уменьшение случаев потери слуха.

Эффект дексаметазона обусловлен торможением индуцированного продуктами распада бактерий высвобождения из макрофагов, астроцитов и других клеток биологически активных веществ – цитокинов (интерлейкин-1,-6 и другие), простагландинов, фактора активации тромбоцитов, – которые увеличивают проницаемость гемато-энцефалического барьера, вызывают менингеальное воспаление, повышают внутричерепное давление и ухудшают мозговой кровоток.

Кроме того, дексаметазон снижает образование окиси азота, усиливающей повреждение нервной ткани [94].

Принципиально важно, чтобы первая доза дексаметазона была введена, как минимум, за 10-15 минут до начала применения антибиотиков, поскольку они вызывают лизис микроорганизмов, при котором происходит высвобождение указанных выше биологически активных веществ под действием фрагментов разрушенной бактериальной клетки. Дексаметазон вызывает некоторое снижение проницаемости гемато-энцефалического барьера, однако она сохраняется на уровне, достаточном для прохождения антибиотиков, используемых при менингите.

Дозировка: по 0,15 мг/кг внутривенно каждые 4 часа в течение 4 дней.

Меры предосторожности: необходимо следить за состоянием желудочно-кишечного тракта, при развитии кровотечения или мелены препарат отменяется. Не следует применять данную методику у новорожденных (не доказана эффективность) и при вирусном менингите.

Воспалительные заболевания толстого кишечника.

Глюкокортикоиды применяются в виде коротких курсов для индукции ремиссии. При неспецифическом язвенном колите, особенно при локализации в дистальном отделе, глюкокортикоиды применяют в качестве препаратов первого ряда в виде свечей или клизм (гидрокортизон, преднизолон).

При средне-тяжелой и тяжелой форме неспецифического язвенного колита и болезни Крона преднизолон (преднизон) применяют внутрь (40-60 мг/день). Парентерально глюкокортикоиды вводят стационарным больным с тяжелой/молниеносной формой в течение 7-10 дней (40-60 мг/день). После восстановления нормального питания больных переводят на преднизолон внутрь с последующей постепенной отменой. В любом случае следует стремиться к возможно более коротким курсам глюкокортикоидов.

Для уменьшения системного действия применяют специальные эфиры преднизолон (метасульфобензоат) или новые препараты (беклометазон дипропионат, тиксокортола пивалат, будезонид) [67].

Перспективным является применение будезонида в виде специальной оральной лекарственной формы с контролируемым высвобождением в толстом кишечнике. При болезни Крона будезонид по эффективности равен преднизолону, но превосходит его по переносимости и в меньшей степени угнетает гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему. Учитывая, что эффект от лечения развивается медленно (максимум через 4-8 недель), будезонид рекомендуется применять длительно для поддержания стойкой ремиссии [99]

Местное применение глюкокортикоидов

Местное применение глюкокортикоидов позволяет создать в патологическом очаге высокую концентрацию препарата и значительно снизить риск развития системных нежелательных реакций.

Разновидности местного введения глюкокортикоидов:

- ингаляционное (в легкие или полость носа),
- интраартикулярное, периартикулярное,
- внутрикожное (в рубцы),
- эпидуральное,
- внутримышечное (внутриперикардальное, внутримышечное и другие),
- ректальное,
- наружное (кожа, глаза, уши).

Ингаляционное введение.

Ингаляционные глюкокортикоиды в настоящее время являются наиболее эффективным методом профилактической, поддерживающей терапии бронхиальной астмы. Их применение базируется на мощном местном противовоспалительном действии. Кроме того, при использовании в течение нескольких месяцев у больных бронхиальной астмой они уменьшают

гиперреактивность дыхательных путей, ослабляя спазмогенные влияния многих биологически активных веществ (гистамин, брадикинин, ацетилхолин, аденозин), холодного и сырого воздуха, двуокиси углерода. Ингаляционные глюкокортикоиды рассматриваются как препараты выбора у больных со средне-тяжелой формой астмы, которая, несмотря на увеличение доз ингаляционных бета2-адреностимуляторов, характеризуется персистирующим ухудшением состояния, наличием неконтролируемых симптомов, снижением функции внешнего дыхания [61].

Для ингаляционного введения используются беклометазон, флунизолид, будезонид, триамцинолона ацетонид и флутиказон. При ингаляционном введении только 10-20% глюкокортикоидов достигают дыхательных путей, в то время как 80-90% задерживаются в полости рта и затем проглатываются. После всасывания в желудочно-кишечном тракте значительная часть препарата подвергается пресистемному метаболизму.

Нежелательные реакции.

Системные реакции. Ингаляционные глюкокортикоиды практически не вызывают системных нежелательных реакций, присущих пероральным препаратам. Низкая системная активность связана с их быстрой инактивацией в печени и, частично, в легких. Только при длительном использовании в высоких суточных дозах они могут угнетать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему. Кроме этого, возможно развитие остеопороза у женщин и задержка роста у детей.

Местные нежелательные реакции отмечаются редко, как правило, в виде дисфонии и орофарингеального кандидоза. Дисфония обусловлена миопатией мышц гортани, обратима и проходит при отмене препарата. Атрофических изменений эпителия дыхательных путей не наблюдалось даже при использовании беклометазона в течение 10 лет.

Факторами риска развития кандидоза являются неправильное пользование ингалятором, пожилой возраст, ингаляции более 2 раз в день, одновременное применение антибиотиков и/или глюкокортикоидов внутрь.

Меры профилактики: применение препарата перед едой, полоскание полости рта и горла после ингаляции, использование спейсера.

Интраназальное введение.

Интраназальное введение глюкокортикоидов используется для профилактики и лечения сезонного аллергического ринита, а также при рецидивирующем полипозе полости носа и придаточных пазух. Благодаря мощному местному противовоспалительному эффекту глюкокортикоиды ослабляют такие симптомы, как насморк, жжение в носу, чихание, заложенность носа. При очень сильной заложенности носа перед их применением можно в течение 3-5 дней использовать местные деконгестанты.

При интраназальном введении глюкокортикоиды хорошо переносятся. Иногда может отмечаться ощущение покалывания в носу или чихание, в редких случаях - геморрагические выделения из носа. Эти явления обычно быстро проходят и не требуют отмены препарата. При применении будезонида описано развитие контактного периназального аллергического дерматита.

Интраназальное введение глюкокортикоидов противопоказано при геморрагическом диатезе и наличии в анамнезе повторных носовых кровотечений.

Интра- и периартикулярное введение.

Для интра- и периартикулярного введения используют водо-нерастворимые инъекционные препараты глюкокортикоидов, эффект которых развивается относительно медленно, но сохраняется длительно. При этом достигается высокая концентрация глюкокортикоидов в синовиальной оболочке и синовиальной жидкости, максимальное местное противовоспалительное действие с минимумом риска системных эффектов.

Показания к внутрисуставному введению: ревматоидный артрит, псориатический артрит, анкилозирующий спондилит, болезнь Рейтера, остеоартроз (при наличии выраженных признаков воспаления сустава, синовита). Внутрисуставное введение применяют при моно- или олигоартрите у больных ревматоидным артритом, а в случае полиартрита – при наличии выраженного воспаления в одном или нескольких суставах. Эффект от внутрисуставного введения глюкокортикоидов при остеоартрозах несколько слабее, чем при других заболеваниях.

Длительность эффекта зависит от вида используемого препарата. Наиболее продолжительным действием обладает, как правило, триамцинолона гексацетонид, наименее длительным – гидрокортизона ацетат (табл. 11). Следует иметь в виду, что в данной таблице представлены лишь усредненные значения продолжительности действия препаратов. Во многих случаях лечебный эффект может зависеть от индивидуальной реакции пациента и сохраняться до нескольких месяцев. У детей с ювенильным ревматоидным артритом после введения в коленный сустав эффект в 40% случаев сохраняется в течение 2 лет и более [44].

Противопоказания: инфекционный артрит, выраженная деструкция сустава, значительный остеопороз, внутрисуставной перелом, периартикулярный целлюлит, остеомиелит, бактериальный эндокардит, сепсис, патология свертывания крови.

Периартикулярное введение глюкокортикоидов используется при упорных, не поддающихся лечению другими лекарственными средствами воспалительных заболеваниях околосуставных тканей, сопровождающихся болевым синдромом и нарушением функции суставов.

Показания: капсулит, тендовагинит, бурсит, эпикондилит, подошвенный фасциит, предплечный туннельный синдром.

Для периартикулярного введения желательно использовать гидрокортизона ацетат (от 5 до 25 мг), поскольку он действует более кратковременно и его

отрицательное влияние на метаболизм соединительной ткани (нарушение синтеза белка) менее выражено, чем у других препаратов.

Нежелательные реакции:

- боль, временное обострение воспалительного процесса;
- инфицирование: наиболее серьезными осложнениями являются септический артрит или периартрит (частота – 1 случай на 17-50 тысяч инъекций), которые могут развиваться даже через 12 недель после введения; группа риска – больные ревматоидным артритом, особенно получающие иммуносупрессивную терапию;
- локальная атрофия и депигментация кожи при периартикулярном введении, чаще при повторных инъекциях и применении мощных глюкокортикоидов с длительным действием;
- дегенеративные изменения в суставе;
- асептический некроз кости;
- образование свищевых ходов (если по ходу иглы остаются кристаллы препарата);
- разрыв сухожилия (при случайном введении в ахиллово сухожилие и сухожилие большой головки бицепса);
- повреждение нервных стволов (n.medianus – при введении в туннель предплечья, n.ulnaris – при медиальном эпикондилите);
- системные эффекты (влияние на обмен веществ, иммуносупрессия, угнетение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и другие).

Глюкокортикоиды применяются ***наружно*** в виде мазей, кремов, гелей, лосьонов при ряде кожных заболеваний. Они оказывают местное противовоспалительное, противоаллергическое действие, устраняют отек, гиперемию, зуд. При наружном применении глюкокортикоидов очень важно, в зависимости от локализации и характера поражения, выбрать оптимальную лекарственную форму, каждая из которых имеет некоторые особенности.

Показания

Псориаз, экзема, нейродермит, контактный дерматит, солнечный дерматит, себорейный дерматит, атонический дерматит, красный плоский лишай, красная дискоидная волчанка, эритродермия

Нежелательные реакции

1. Со стороны кожи:

- атрофия (чаще на лице – "кортикостероидное лицо", поэтому, по возможности, не следует применять на лице сильные мази за исключением гидрокортизона 17-бутирата); стрии; депигментация; раздражение кожи; телеангиоэктазии;
- угревая сыпь;
- Tinea incognito – атипичная клиническая картина дерматомикоза при использовании глюкокортикоидов (как местно, так и системно);
- периоральный дерматит (чаще у молодых женщин, для лечения можно применять тетрациклин в течение 4-6 недель);
- гирсутизм или лобная алопеция у женщин.

2. Присоединение или диссеминация инфекции.

3. Системное действие (при длительном применении, нанесении на обширные участки тела, чаще у детей и при использовании окклюзионных повязок).

4. Синдром отмены (как правило, требует возобновления применения местных препаратов глюкокортикоидов).

Частота и сила побочных явлений, вызываемых глюкокортикоидами, могут быть выражены в разной степени. Побочные эффекты, как правило, являются проявлением собственно глюкокортикоидного действия этих ЛС, но в степени, превышающей физиологическую норму. При правильном подборе дозы, соблюдении необходимых мер предосторожности, постоянном наблюдении за ходом лечения частоту развития побочных явлений можно значительно снизить.

Для предупреждения нежелательных эффектов, связанных с применением глюкокортикоидов, следует, особенно при длительном лечении, тщательно наблюдать за динамикой роста и развития у детей, периодически проводить

офтальмологическое обследование (для выявления глаукомы, катаракты и др.), регулярно контролировать функцию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, содержание глюкозы в крови и моче (особенно у больных сахарным диабетом), проводить контроль АД, ЭКГ, электролитного состава крови, контроль за состоянием ЖКТ, костно-мышечной системы, контроль за развитием инфекционных осложнений и др.

Большинство осложнений при лечении глюкокортикоидами поддаются лечению и проходят после отмены ЛС. К необратимым побочным эффектам глюкокортикоидов относят задержку роста у детей (возникает при лечении глюкокортикоидами в течение более 1,5 лет), субкапсулярную катаракту (развивается при наличии семейной предрасположенности), стероидный диабет.

Исходя из вышеизложенного, не вызывает сомнений отрицательное воздействие терапия глюкокортикоидами на состояния биоценоза влагалища.

1.5. Современные методы лабораторных исследований биоценоза влагалища

Работа акушера-гинеколога немыслима без применения методов лабораторной диагностики. Абсолютное большинство клиницистов придерживается мнения, что в постановке диагноза от 50 до 80% - это грамотное, своевременное и полное применение различных методов диагностики. Современная лаборатория предлагает широчайший спектр исследований, направленных как на поиск инфекционных агентов и изучение условно-патогенной флоры, так и на выяснение реакции пациента на присутствие инфекционного агента, его текущего состояния и индивидуальных особенностей.

Как правило, в арсенале лаборатории сегодня можно обнаружить более 1 500 различных тестов и задача врача – понимать, к каким группам относятся предлагаемые исследования, как и в какое время их необходимо назначать, осознавать показания и противопоказания к проведению исследования и, главное, уметь трактовать полученные результаты, как в комплексе назначений, так и по отдельности.

Лабораторные тесты можно разделить на прямые и косвенные. Прямые методы выявляют непосредственно инфекционный агент и к ним относятся: микроскопия, культуральный посев, молекулярно-генетические методы исследования и ИФА, выявляющее антигены. К косвенным методам лабораторных исследований можно отнести методы, определяющие реакцию пациента на присутствие инфекционного агента. Наиболее яркий и часто используемый в этой группе метод – иммуноферментный анализ, выявляющий антитела.

Рассмотрим более подробно прямые методы лабораторных исследований, которые наиболее часто встречаются в практике акушера-гинеколога. Это микроскопическое исследование мазков из влагалища, нативных и окрашенных по Граму, бактериологический посев и молекулярно-биологические методы исследований (в частности, полимеразная цепная реакция (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени).

Микроскопическое (бактериоскопическое) исследование нативных «влажных» или окрашенных анилиновыми красителями препаратов – это исследование клинического материала, полученного из половых органов (влагалище, цервикальный канал, уретра), с помощью светового микроскопа с использованием разного увеличения (x100, x400, x1000).

Путем прямой микроскопии влажного (нативного) препарата могут быть идентифицированы следующие морфологические структуры:

- клетки вагинального эпителия;
- сегментоядерные или полиморфноядерные лейкоциты;
- псевдомицелий и/или бластоспоры дрожжеподобных грибов;
- трихомонады;
- «ключевые» клетки;
- морфотипы лактобацилл — *Lactobacillus ssp.* состоят из нескольких видов, из которых каждый может быть идентифицирован с применением бактериологических методов;
- слизь;

- мелкая кокковая микрофлора.

Относительно редко в препарате могут быть выявлены:

- сперматозоиды;

- капельки липидов (когда пациентка пользуется вагинальными аппликациями);

- эритроциты;

- волокна (обычно вата) [15,16],

При окраске по методу Грама, кроме выявления морфологии бактерий, описанной выше, происходит их разделение на две группы. В зависимости от химической структуры клеточной стенки бактерии обладают способностью либо удерживать краситель кристаллический фиолетовый, либо обесцвечиваться в спирте. По результатам окрашивания бактерии подразделяют на грамположительные (темно-синие) и грамотрицательные (бледно-розовые). Некоторые бактерии невозможно классифицировать по отношению красителям при окраске по Граму. Это бактерии, не имеющие клеточной стенки (микоплазмы), бактерии, имеющие небольшие размеры (хламидии), бактерии, требующие особых методов окраски (микобактерии) и грамвариабельные бактерии (те, которые при окрашивании могут быть как темно-синими, так и бледно-розовыми). Дрожжеподобные грибы окрашиваются, как грамположительные бактерии в темно-синий цвет [27].

Несомненными преимуществами микроскопии являются высокая скорость проведения исследования, дешевизна методики и возможность оценивать местную воспалительную реакцию по количеству выявленных лейкоцитов. Среди минусов методики необходимо назвать низкую разрешающую способность, высокие требования к квалификации врача, проводящего исследование и сложность количественных оценок выявленных микроорганизмов, и, как следствие, плохую сопоставимость с последующими микроскопическими исследованиями, а, значит, невозможность динамических наблюдений. Кроме

того, необходимо отметить трудности автоматизации данной методики и высокие требования к лабораторным этапам анализа.

- Эпителиальные клетки — поверхностные клетки слизистой оболочки. В зависимости от анатомического расположения, они отличаются по виду и по размеру. Влагалище покрыто многослойным плоским эпителием. Поверхностные клетки вагинального эпителия — наиболее многочисленная часть мазка (это самые крупные эпителиальные клетки генитального тракта). Они имеют многоугольные очертания. Ядра — овальные, расположены в центре клетки. Соотношение ядра к цитоплазме составляет приблизительно от 1:15 до 1:25. Эндцервикс покрыт цилиндрическими эпителиальными клетками. Они меньше, чем сквамозные клетки, и имеют цилиндрический вид (больше по высоте, чем по ширине). Соотношение ядра и цитоплазмы приблизительно от 1:3 до 1:5. В большинстве случаев можно видеть не целую клетку, а только овальные, равномерно окрашенные ядра в цервикальной слизи. Эпителиальные клетки уретры имеют промежуточную форму и называются кубовидными (цилиндрическими). В действительности же они выглядят почти круглыми в поверхностных слоях и удлиненными — в более глубоких слоях.

- Сегментоядерные лейкоциты или полиморфноядерные лейкоциты — клетки крови, часто обнаруживаются в мазках из генитального тракта и по размерам равны ядру эпителиальной клетки. Во влажном мазке они выглядят круглыми и могут быть овальными в цервикальной слизи. Можно легко идентифицировать полисегментные ядра внутри этих клеток при увеличении $\times 400$ во влажном мазке (настраивая фокусировку вверх и вниз) и при $\times 1000$ в препаратах, окрашенных метиленовым синим.

- Простейшие, представленные в этой анатомической локализации, — главным образом, *Trichomonas vaginalis*. Это простейшее — подвижное, его размер почти равен размеру ядер сквамозного эпителия или иногда больше. Трихомонады проявляют характерные хаотические судорожные (конвульсивные) движения, поскольку они приводятся в движение расположенными спереди четырьмя жгутиками. Их можно видеть при увеличении $\times 100$, а жгутики можно

видеть при увеличении $\times 400$. При окрашивании препарата метиленовым синим и просмотре при увеличении $\times 1000$ можно увидеть характерную форму трихомонад, эксцентрично расположенное ядро, вакуолизированную цитоплазму, жгутики и аксостиль.

- Дрожжеподобные грибы в этой анатомической локализации представлены в основном *Candida ssp.* Зачатки (почки) — это споры на той стадии, когда дрожжеподобные грибы начинают свой рост. Это выглядит так, как если бы овальная клетка имела еще «маленький овал» на одном из своих полюсов. В вагинальных образцах дрожжи размножаются бесполым путем, формируя почки (зачатки) — бластоконидии. Если почки продолжают формироваться, удлиняться и не отделяются одна от другой, они напоминают нити (гифы) и называются псевдогифами или псевдомицелием. Они выглядят как нити очень разной длины. При окраске препаратов метиленовым синим при увеличении микроскопа $\times 1000$ хорошо виден псевдомицелий и дрожжевые клетки.

- Сперматозоиды — это мужские половые клетки, которые могут быть определены в вагинальном или цервикальном мазке, а также в уретральном мазке мужчины. Они имеют маленькую головку (по размеру, как один сегмент ядра полиморфноядерных лейкоцитов) и длинный хвост, хорошо различимые как в нативных ($\times 400$), так и в окрашенных ($\times 1000$) мазках.

- Слизь обычно обнаруживается в клинических материалах, полученных из гениталий. Это аморфная масса в виде тяжей (растянутая или скрученная), которая образует фон в цервикальном мазке или может выявляться во влажном мазке, как некоторая масса, образующая тяжи. В окрашенных препаратах она видна в виде аморфных однородных тяжей.

- Микрофлора представляет собой наиболее мелкие объекты, которые могут быть определены с помощью прямой микроскопии. Обычно они имеют круглую или продолговатую форму и называются кокками или бациллами (палочками). *Lactobacillus ssp.* являются наиболее распространенными обитателями влагалища здоровых женщин и микроскопически выглядят в виде относительно больших прямых палочек с тупыми концами. В мазках, окрашенных метиленовым синим,

лактобациллы видны в виде палочек интенсивно-синего цвета. Некоторые виды лактобацилл могут выглядеть, как довольно короткие и толстые палочки.

- Другие, часто встречающиеся формы микроорганизмов наблюдаются в случае бактериального вагиноза. Поскольку они присутствуют в огромном количестве и по размерам относительно мелкие, то более уместно было бы их называть кокковой флорой (в окрашенных препаратах они выглядят как промежуточная флора между кокками и палочками). Наиболее серьезными патологическими агентами, наблюдаемыми в мазках генитального тракта, являются внутриклеточные диплококки *N. gonorrhoeae*. Они имеют типичную морфологию (форма боба) и выявляются внутри или в тесной связи с полиморфноядерными лейкоцитами. Считается сомнительным, если обнаруживаются только внеклеточные микроорганизмы или морфологически атипичные внутриклеточные диплококки.

- Иногда во влажных мазках могут быть видны липиды — компоненты интравагинальных средств или волокна ваты. Липиды имеют вид округлых, разного размера объектов, не имеющих структуры. Обычно они многочисленны. Ворсинка хлопка неопытным исследователем по ошибке может быть принята за псевдогифы дрожжеподобных грибов. Она всегда слишком большая для гифа и никогда не имеет почки.

В зависимости от выявленных морфотипов, их соотношения между собой и количественной оценки лейкоцитарной реакции, различают 4 степени чистоты влагалища (согласно классификации Е.Ф.Кира) (табл. 6) [15,16].

Таблица 6. Степени чистоты влагалища.

Биоценоз	Признаки	Нозология
Нормоценоз	Доминирование лактобацилл, отсутствие грамотрицательной микрофлоры, спор, мицелия, псевдогифов, лейкоцитов, единичные “чистые” эпителиальные клетки.	Типичное состояние нормального биотопа влагалища у женщин репродуктивного возраста.
Промежуточный тип	Умеренное или сниженное количество лактобактерий, наличие грамположительных кокков, грамотрицательных палочек. Обнаруживаются лейкоциты, макрофаги, эпителиальные клетки.	Часто наблюдается у здоровых женщин, редко сопровождается субъективными жалобами и клиническими проявлениями.
Дисбиоз влагалища	Незначительное количество, но чаще полное отсутствие лактобацилл, обильная, полиморфная грамотрицательная и грамположительная палочковая и кокковая микрофлора. Наличие "ключевых клеток", количество лейкоцитов варьируемо, отсутствие или незавершенность фагоцитоза. Полимикробная картина мазка.	Бактериальный вагиноз.
Вагинит	Большое количество лейкоцитов, макрофагов, эпителиальных клеток, выраженный фагоцитоз. При обнаружении специфического возбудителя:	Неспецифический вагинит. Гонорея Трихомониаз Микотический вагинит

Таким образом, микроскопическое исследование способно дать общую картину состояния влагалища, описание морфотипов обнаруженных микроорганизмов и оценку лейкоцитарной реакции.

Бактериологическое исследование – прямой способ обнаружения и идентификации бактерий путем культивирования на питательных средах из материала, полученного от пациентов или из окружающей среды.

К несомненным плюсам бактериологических исследований следует отнести стандартизованные методики проведения исследования, возможность получения антибиотикочувствительности выявленных микроорганизмов и солидный опыт применения тестов в практической медицине. Долгое время бактериологический посев считался «золотым стандартом» для выявления нормофлоры, патогенных и условно-патогенных микроорганизмов урогенитального тракта.

Учет результатов исследований также автоматизирован, что значительным образом снижает возможность получения ошибочного результата. Все микроорганизмы, которые удалось культивировать на протяжении 5 дней, поступают в масс-спектрометр. Масс-спектрометрия – физический метод идентификации молекул путем измерения отношения их массы к заряду (m/z) в ионизированном состоянии. Для этого используются законы движения заряженных частиц в магнитном или электрическом поле.

В масс-спектрометре спектр полученного от колонии излучения сравнивается со стандартными спектрами, содержащимися в базе данных. Информация в базе данных организована в виде так называемых СуперСпектров (Superspectra™). Под этим термином подразумевается, что для каждого вида микроорганизмов сформирован характерный набор белков (биомаркеров), полученный на основе анализа не менее 20 масс-спектров этого вида. При этом образцы получены из различных источников (больниц, лабораторий, микробиологических коллекций). Каждый образец тщательно идентифицирован с помощью сиквенса 16s РНК или других сертифицированных методов анализа. Для родов и семейств охарактеризованных микроорганизмов сформированы наборы присущих только им биомаркеров. Структурированная таким образом база данных позволяет быстро и точно идентифицировать микробиологические штаммы, а при невозможности этого — примерно определять место микроорганизма в таксономической иерархии. В базе данных накоплены

суперспектры более чем для 1600 видов и 230 родов различных микроорганизмов.

Несмотря на массу достоинств, методика имеет ряд недостатков и в первую очередь, это высокие требования к хранению и транспортировке биологического материала, трудности культивирования облигатно-анаэробных микроорганизмов, высочайшие требования к организации лаборатории, необходимость использовать для культивирования разных микроорганизмов разные питательные среды, субъективизм при оценке полученных результатов и длительный срок получения результатов.

Современные бактериологические исследования – это, как правило, автоматизированные посевы, при которых результат исследования может быть получен в течение 5 дней, а при отсутствии роста микроорганизмов в исследуемом образце – уже через 3 дня.

Сравнительная характеристика различных методов исследования приведена в таблице 7.

Таблица 7. Сравнение прямых методов лабораторной диагностики микроорганизмов урогенитального тракта.

	Микроскопия	Бактериологический посев	ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени
Материал для исследования	Отделяемое урогенитального тракта	Отделяемое урогенитального тракта	Соскоб с задне-боковой стенки влагалища
Противопоказания к проведению теста	Нет	Местная или системная антибиотикотерапия, применения препаратов, содержащих микроорганизмы.	Ранее, чем через 24-48 часа после кольпоскопии. Ранее, чем через 24 часа после УЗИ-исследования с помощью влагалищного датчика. Ранее, чем через

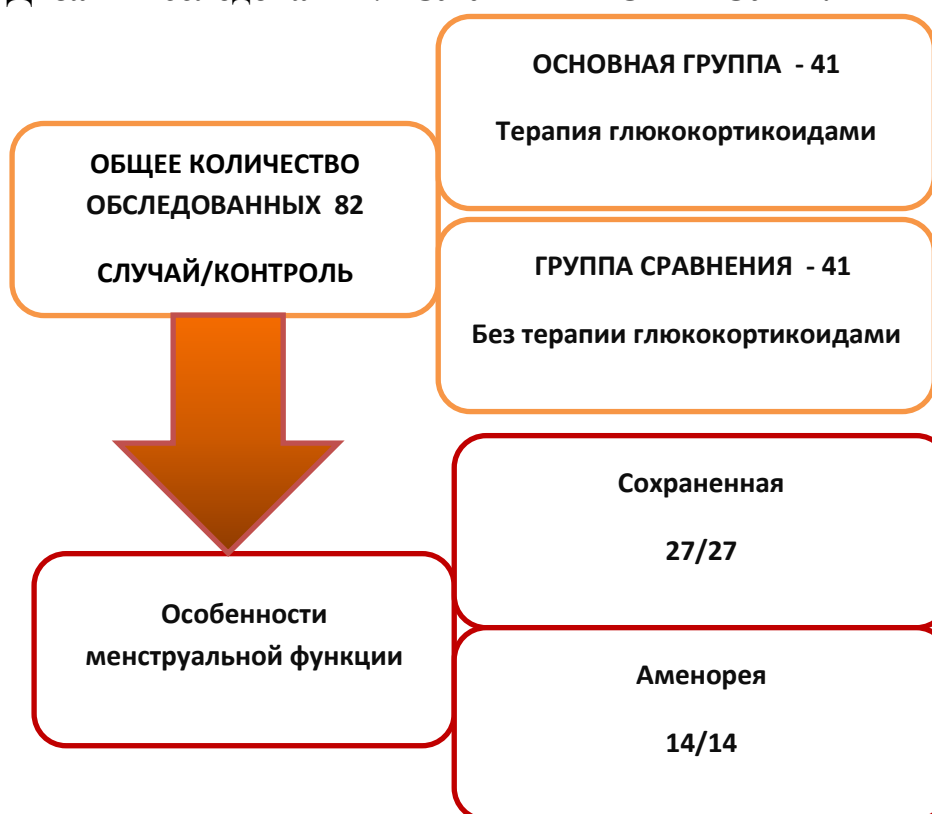
			2 недели после применения лекарственных препаратов (пробиотики, эубиотики), содержащих микроорганизмы.
Сроки получения результата теста	В тот же день	От 3 до 5 дней	На следующий день
Необходимость живых микроорганизмов для исследования	Нет	Да	Нет
Контроль взятия материала	Нет	Нет	Да
Возможность количественной оценки	Относительная	Относительная	Точная количественная оценка
Оценка антибиотико-чувствительности	Нет	Да	Нет
Выявление облигатно-анаэробной флоры	Нет	Частично	Да
Возможность автоматизации методики	Нет	Да	Да
Автоматическая оценка соотношения микроорганизмов между собой	Нет	Нет	Да

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1. Клиническая характеристика больных.

Работа выполнена на кафедре акушерства и гинекологии лечебного факультета №1 Первого Московского Государственного Медицинского Университета имени И.М. Сеченова (зав. кафедрой д.м.н., профессор А.И. Ищенко), на базе клиники акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева.

Рис 2. Дизайн исследования: «СЛУЧАЙ-КОНТРОЛЬ».



В исследование были включены 82 пациентки в возрасте от 17 до 67 лет (средний возраст 40,8 года), составивших 2 клинические группы (основная $n=41$ и группа сравнения $n=41$), отобранных по принципу **СЛУЧАЙ/КОНТРОЛЬ** (рис 2).

Таблица 8. Количество проведенных лабораторных тестов в основной группе и группе сравнения.

Наименование теста	Основная группа		Группа сравнения	
	М+ (n=27)	М- (n=14)	М+ (n=27)	М- (n=14)
Исследование биоценоза влагалища (тест Фемофлор)	27	14	27	14
Исследование микробного пейзажа мочи (тест Фемофлор)	27	14	10	5
Оценка эффективности проведенной терапии спустя 14 дней после лечения (тест Фемофлор)	27	14	0	0
Оценка эффективности проведенной терапии спустя 3 месяца после лечения (тест Фемофлор)	27	14	0	0
Мазок, окрашенный по Граму	27	14	27	14
Посев из влагалища	27	14	27	14
Посев мочи	27	14	27	14

Основную группу составили 41 пациентка с системными заболеваниями, находившихся в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней имени Е.М. Тареева в период с февраля 2013 по август 2014 года и получавших терапию глюкокортикоидами в связи с основным заболеванием.

В качестве группы сравнения по принципу «случай-контроль» были отобраны 41 женщина, совпадающие с пациентками основной группы по следующим параметрам: возраст, отсутствие беременности на момент обследования, акушерско-гинекологический анамнез, особенности менструальной функции, состояние урогенитального тракта по данным визуального обследования и результатам стандартных дополнительных методов обследования.

В зависимости от характера менструальной функции пациентки были разделены на 2 подгруппы, условно обозначенные как «РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПЕРИОД» (РП) и «ПОСТМЕНОПАУЗА» (ПМ).

В основную подгруппу «РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПЕРИОД» были включены 27 женщин в возрасте от 17 до 51 года (средний возраст $32,3 \pm 9,96$) с сохранной менструальной функцией, страдающих системными заболеваниями, включающими поражение почки получающих терапию глюкокортикоидами.

В качестве группы сравнения «РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПЕРИОД» были отобраны 27 женщин по принципу «случай-контроль», которые совпадали с пациентками основной группы по возрасту, отсутствию беременности на момент обследования, акушерско-гинекологическому анамнезу, состоянию урогенитального тракта по данным визуального обследования и результатам стандартных дополнительных методов обследования.

В подгруппу «ПОСТМЕНОПАУЗА» вошли 14 женщин в возрасте от 40 до 67 лет (средний возраст $56,4 \pm 7,4$) с аменореей, также страдающих системными заболеваниями, включающими поражение почек, и получающих терапию глюкокортикоидами.

В качестве группы сравнения «ПОСТМЕНОПАУЗА» были отобраны 14 женщин в постменопаузе по принципу «случай-контроль», совпадающие с пациентками из основной группы по возрасту, продолжительности менопаузы, акушерско-гинекологическому анамнезу, состоянию урогенитального тракта по данным визуального обследования и результатам стандартных дополнительных методов обследования.

Для групп сравнения **ВЕДУЩИМ** критерием исключения являлось применения препаратов глюкокортикоидного ряда в течение года до начала обследования.

ОБЩИМИ критериями исключения для пациенток основных и контрольных групп (групп сравнения) являлись: наличие облигатно патогенных возбудителей инфекций, передающихся половым путем (*Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Mycoplasma genitalium*), сифилиса, ВИЧ и гепатитов, а также применение системной или местной антимикробной или антимикотической терапии в течение 4 недель до обследования.

2.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.2.1. Клиническое обследование

Клиническое обследование проводили по общепринятой схеме.

Анамнестические данные: оценивали жалобы больных, время их появления, уточняли длительность заболевания.

Особое внимание уделяли менструальной и репродуктивной функциям. Отмечали возраст менархе, характер менструальной функции, регулярность и продолжительность менструальных циклов. При анализе репродуктивной функции оценивали количество наступивших беременностей.

Объективное обследование. После получения необходимых анамнестических данных приступали к объективному обследованию. При осмотре пациентки обращали внимание на тип телосложения, состояние кожных покровов (наличие гирсутизма, стрий, акне, гиперпигментации), развитие вторичных половых признаков. Измеряли рост и массу тела пациенток с последующим вычислением ИМТ по формуле Вгеу. Обращали внимание на характер распределения подкожно-жировой клетчатки, вычисляя индекс отношения окружности талии к окружности бедер. Величина индекса ОТ/ОБ более 0,83 указывала на висцеральный тип распределения жировой ткани. Для оценки степени андрогенизации производили подсчет гирсутного числа по шкале Ferriman et Galvvey. Производили осмотр и пальпацию молочных желез, определяя наличие или отсутствие галактореи. Степень развития молочных желез оценивали по шкале Tanner.

Гинекологическое исследование проводилось предварительно всем пациенткам. При этом оценивали развитие наружных половых органов - больших и малых половых губ, клитора, емкость влагалища и окраску его слизистой. При *осмотре шейки матки в зеркалах* обращали внимание на наличие патологических процессов в виде эктропиона, цервицитов, лейкоплакий и др. При необходимости пациенткам проводилась *простая или расширенная*

кольпоскопия. Уровень эстрогенной насыщенности косвенно оценивали по показателям цервикального числа Insler.

Бимануальному исследованию внутренних гениталий всегда предшествовал **осмотр влагалища и шейки матки в зеркалах** с последующим выполнением специальных приемов и методов для оценки биоценоза. При осмотре **визуально оценивали количество выделений, их цвет и прочие характеристики.** Стерильным ватным тампоном секрет влагалища наносили на обезжиренное предметное стекло (**взятие мазков**). После подсушивания на воздухе секрет фиксировали в метаноле для последующего окрашивания и микроскопии.

Кроме того производили **взятие образцов материала для ПЦР.**

Измерение уровня pH вагинального секрета проводили с помощью бумажных лакмусовых тест-полосок, ориентируясь на изменения цвета. pH метрию выполняли в области заднего свода влагалища. Использовали тест-полоски КОЛЬПО-тест pH (Биосенсор, Россия) от 3,0 до 7,0 с шагом деления 0,5.

Аминный тест проводили при помощи 10% раствора КОН. Образование специфического «рыбного» запаха при смешивании в равных пропорциях раствора КОН и влагалищного секрета свидетельствовало о положительной пробе.

При **бимануальном исследовании** определяли положение и размеры тела матки, его подвижность, болезненность при пальпации, размеры и наличие образований в области придатков матки, степень выраженности спаечного процесса.

Возраст больных колебался от 17 до 67 лет, составляя в среднем 40,8 лет, что связано с тем, что системные заболевания развиваются, в основном, в более зрелом возрасте.

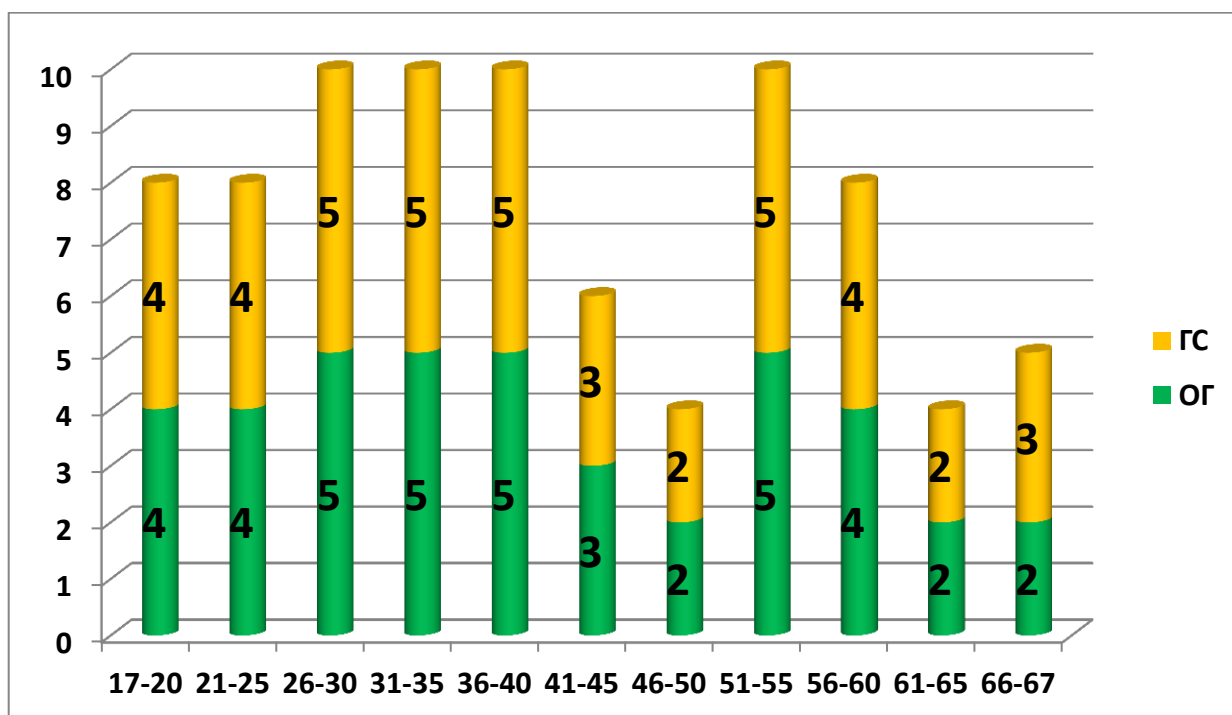
Распределение пациенток основной и контрольной групп по возрасту и особенностям менструальной функции представлено в табл.9.

Таблица 9. Распределение пациенток в зависимости от возраста и менструальной функции.

Возраст	Количество пациенток (n=82)	M+ (n=54) (%)	M- (n=28) (%)
17-20	8/8,7%	8/14,81%	0/0%
21-25	8/8,7%	8/14,81%	0/0%
26-30	10/10,87%	10/18,52%	0/0%
31-35	10/10,87%	10/18,52%	0/0%
36-40	10/10,87%	8/14,81%	2/7,14%
41-45	6/6,52%	6/11,11%	0/0%
46-50	4/4,35%	2/3,7%	2/7,14%
51-55	10/10,87%	2/3,7%	8/28,57%
56-60	8/8,7%	0/0%	8/28,57%
61-65	4/4,35%	0/0%	4/14,29%
66-67	4/4,35%	0/0%	4/14,29%

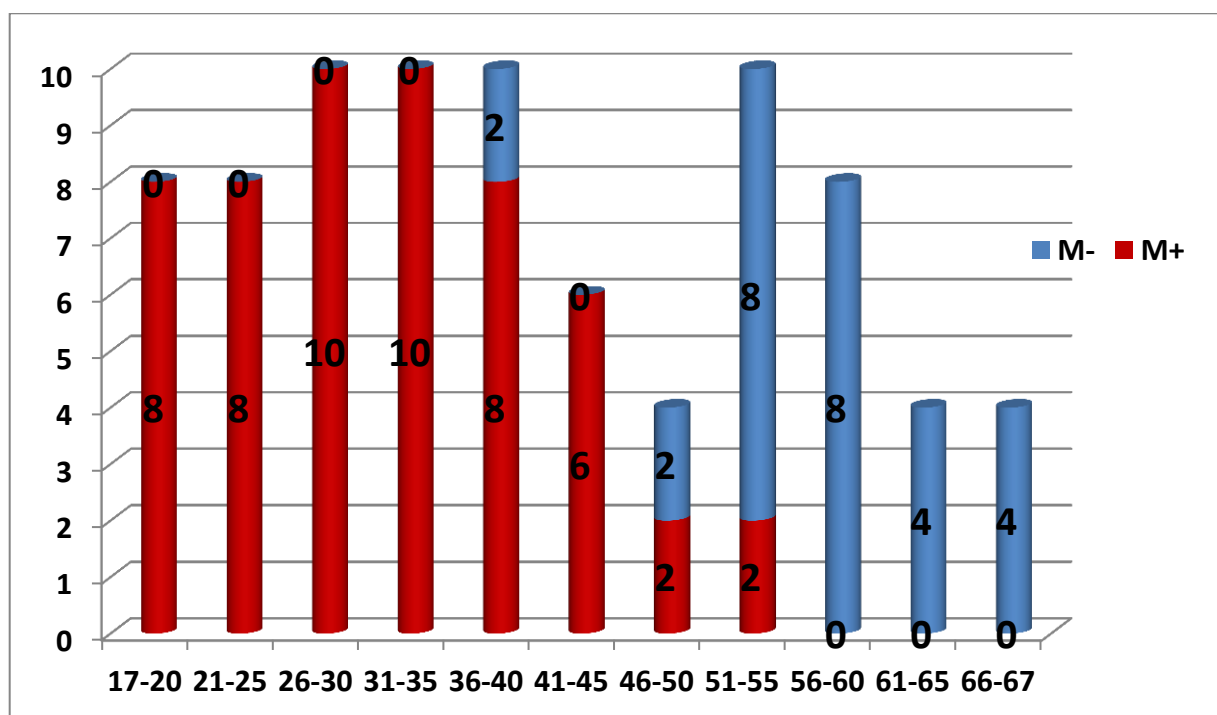
Распределение пациенток исследуемой (ОГ) и контрольной группы (ГС) по возрастам (n=82) представлено на рис. 3.

Рис.3. Распределение пациенток основной и контрольной групп по возрасту.



Распределение пациенток исследуемой и контрольной группы по возрастам (n=82) в зависимости от менструальной функции представлено на рис. 4

Рис.4. Распределение пациенток исследуемой и контрольной группы по возрастам (n=82) в зависимости от менструальной функции



Средний возраст пациенток с сохранной менструальной функцией составил $32,3 \pm 9,96$ года. Средний возраст пациенток с отсутствующей менструальной функцией составил $56,4 \pm 7,4$ лет.

Распределение пациенток в зависимости от нозологии (рис.5), длительности заболевания, возраста и особенностей менструальной функции представлено в табл.10.

Таблица 10. Распределение пациенток по нозологии, длительности основного заболевания, возрасту и особенностям менструальной функции.

Заболевание	n	Длительность, средняя, лет	Глюкокортикоидная терапия, продолжительность средняя, лет	Средний возраст, лет	Средний возраст возникновения заболевания, лет	M+/M-
Гломерулонефрит	16	5,62	2,5	40,43	34,81	11/5

СКВ	14	8,07	6,14	38,57	30,5	10/4
Ревматоидный артрит	3	7,66	5,0	44,66	37,0	2/1
Системная склеродермия	3	6,66	6,33	37,0	30,3	2/1
Геморрагический васкулит	2	2,0	1,5	40	38,0	1/1
Эозинофильный гранулематоз	1	3,0	3,0	67	64	0/1
Синдром Чарн Стросса	1	6,0	6,0	47,0	41,0	0/1
АФС	1	1,0	1,0	36,0	35,0	1/0

Рис 5. Распределение пациенток основной группы по нозологиям.

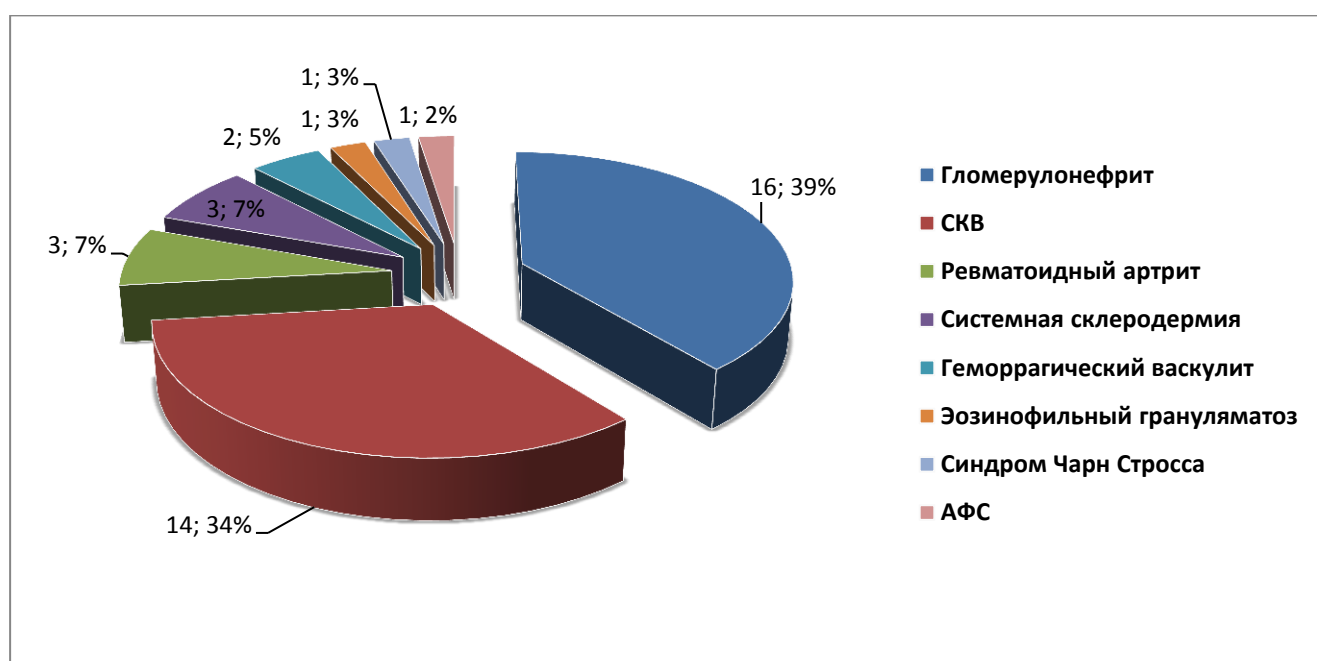
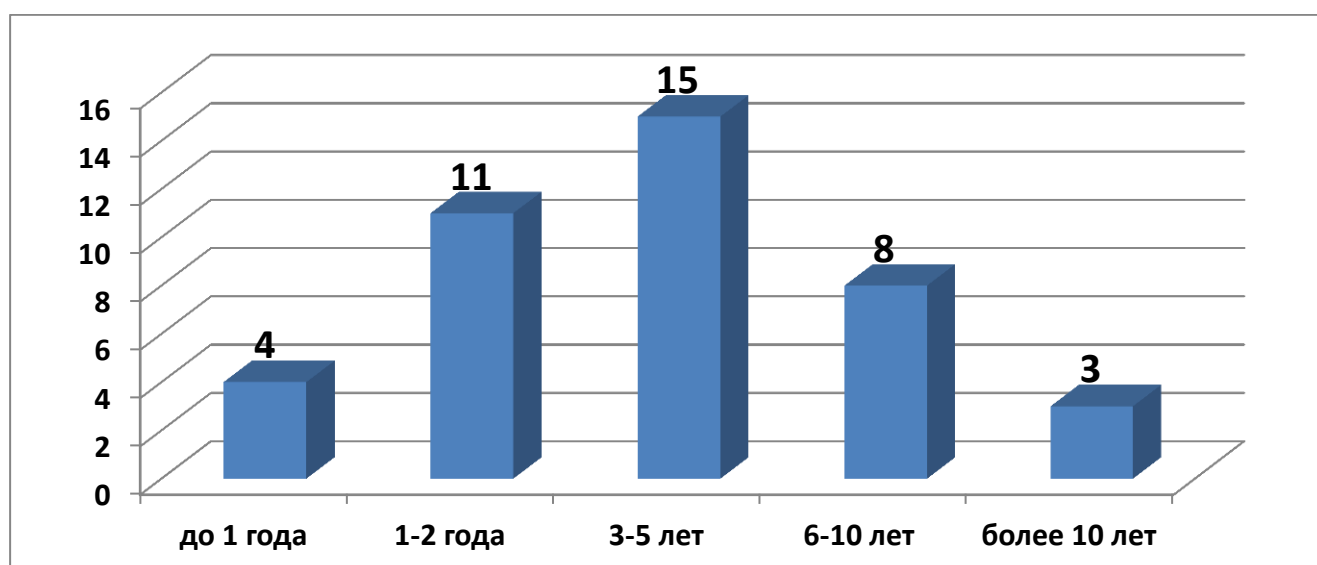


Рис. 6. Распределение пациенток по длительности приема ГК терапии.



Длительность приема препаратов глюкокортикоидного ряда у пациенток основной группы колебалась от 6 мес до 12 лет и в среднем составила 5,8 года. Распределение пациенток по длительности приема глюкокортикоидов представлено на рис. 6.

Распределение пациенток в зависимости от характера жалоб представлено в табл. 11. Из 41 пациентки отмечали зуд и жжение в области наружных половых органов 12 (29,26%) пациенток, причем для этого показателя доля пациенток в постменопаузе была почти вдвое больше, чем доля пациенток с сохранной менструальной функцией (42,85 и 22,22%, соответственно). На диспареунию жаловались 9 женщин (21,95%) из них репродуктивного возраста 3 (11,1%) женщины, в постменопаузе – 6 (42,85%). По этому показателю были обнаружены статистически значимые различия между группами в зависимости от сохранности менструальной функции. На выделения из половых путей в исследуемой группе жаловались 13 (31,07%) пациенток. Наибольшее количество жалоб предъявляли пациентки с сохранной менструальной функцией (9 против 4 в группе в постменопаузы).

Таблица 11. Распределение пациенток по гинекологическим жалобам и их особенностям.

ПОКАЗАТЕЛЬ	Основная группа		Группа сравнения	
ЖАЛОБЫ	М+	М-	М+	М-
Активные	0	0	3	0
При расспросе	13 (48,1%)	6 (42,85%)	0	0
Зуд, жжение	6 (22,22%)	6 (42,85%)	0	0
Диспареуния	3* (11,11%)	6* (42,85%)	0	0
Выделения из п/путей	9 (33,33%)	4 (28,57%)	3 (11,11%)	
ОСМОТР	БП	БП	БП	БП

* - между группами были найдены статистически достоверные различия ($p < 0,05$).

Не предъявляли никаких жалоб 18 (43,9%) пациенток; из них 14 (51,9%) женщин – из группы с сохранной менструальной функцией, 4 (28,57%) – из группы постменопаузы.

Важно отметить, что на момент обследования ни одна из пациенток не предъявляла активных жалоб на состояние репродуктивной сферы. Только при тщательном и прицельном опросе о наличии некоторого дискомфорта «вспомнили» 19 пациенток (46,34%) .

В группе сравнения жалобы на выделения предъявляли только 3 (11,1%) пациентки репродуктивного возраста, жалоб на зуд, жжение и диспареунию в контрольной группе не было ни у одной женщины.

Результаты обследования пациенток основной группы и группы сравнения представлены в табл.12.

Таблица 12. Структура исследуемой группы и группы сравнения по результатам стандартных дополнительных методов лабораторных исследований.

Показатель	Основная группа		Группа сравнения	
	M+ (n=27)	M- (n=14)	M+ (n=27)	M- (n=14)
Исследование мазка на флору:				
Лейкоциты				
До 5	15 (55,55%)	4 (28,57%)	23 (85,18%)	11 (78,57%)
До 10	12 (44,44%)	10 (82, 43%)	3 (11,11%)	3 (21,42%)
Более 10	0	0	1 (3,7%)	0
Флора				
палочковая	12 (44,44%)	3 (21,42%)	24 (88,88%)	7 (50,0%)
кокковая	4 (14,81%)	4 (28,57%)	0	5 (35,71%)
смешанная	11 (40,74%)	7 (50%)	3 (11,11%)	2 (14,28%)
Степень чистоты				
1	11 (78,57%)	4 (28,57%)	21 (77,77%)	7 (50,0%)
2	10 (37,03%)	8 (57,14%)	1 (3,7%)	7 (50,0%)
3	6 (22,22%)	2 (14,28%)	4 (14,81%)	0
4	0	0	1 (3,7%)	0
Аминовый тест				
Положительный	0	0	0	0
Отрицательный	27 (100%)	14 (100%)	27 (100%)	14 (100%)
Посев из влагалища				
Микроорганизмы не обнаружены	12 (44,44%)	11 (78,57%)	9 (33,33%)	11 (78,57%)
Микроорганизмы обнаружены				
Нормальная флора	13 (48,14%)	1 (7,14%)	18 (66,67%)	1 (7,14%)
УПМ	6 (22,22%)	2 (14,28%)	3 (11,11%)	3 (21,42%)

Посев мочи				
Микроорганизмы не обнаружены	27 (100%)2	14 (100%)	27 (100%)	13 (92,86%)
Микроорганизмы обнаружены				
	Нормальная флора	0	0	0
	УПМ	0	0	1 (7,14%)

Особенности становления менструальной функции у пациенток основной группы представлены в табл.13.

Таблица 13. Характер становления менструальной функции.

Возраст наступления менархе (лет)	Количество обследованных (n= 41)	
	n	%
9-11	8	19,51%
12-14	27	65,85%
15 и более	6	14,63%

Продолжительность менструального цикла у всех пациенток независимо от возраста и нозологии в среднем составила $28,95 \pm 2,8$ дней. Продолжительность менструального кровотечения составила в среднем $4,68 \pm 1,2$ дня.

Сведения о репродуктивном анамнезе пациенток основной группы представлены в табл.14.

Таблица 14. Данные репродуктивного анамнеза

Беременность	Все обследованные (n=41)	
	n	%
0	10	24,39
1-2	14	34,15
3-4	11	26,83
5 и более	6	14,63

У 75,6% пациенток в анамнезе были беременности. У абсолютного большинства - 14 пациенток (34,15% всех обследованных) в анамнезе 1-2

беременности, у 7 пациенток – 1 беременность, у оставшихся 7 – по 2 беременности. У 7 пациенток было 3 беременности, у 4 (9,76%) – по 4 беременности. 5 беременностей в анамнезе было у 5 пациенток и только у одной пациентки в анамнезе было 6 беременностей. Распределение пациенток по количеству беременностей приведено на рис.7.

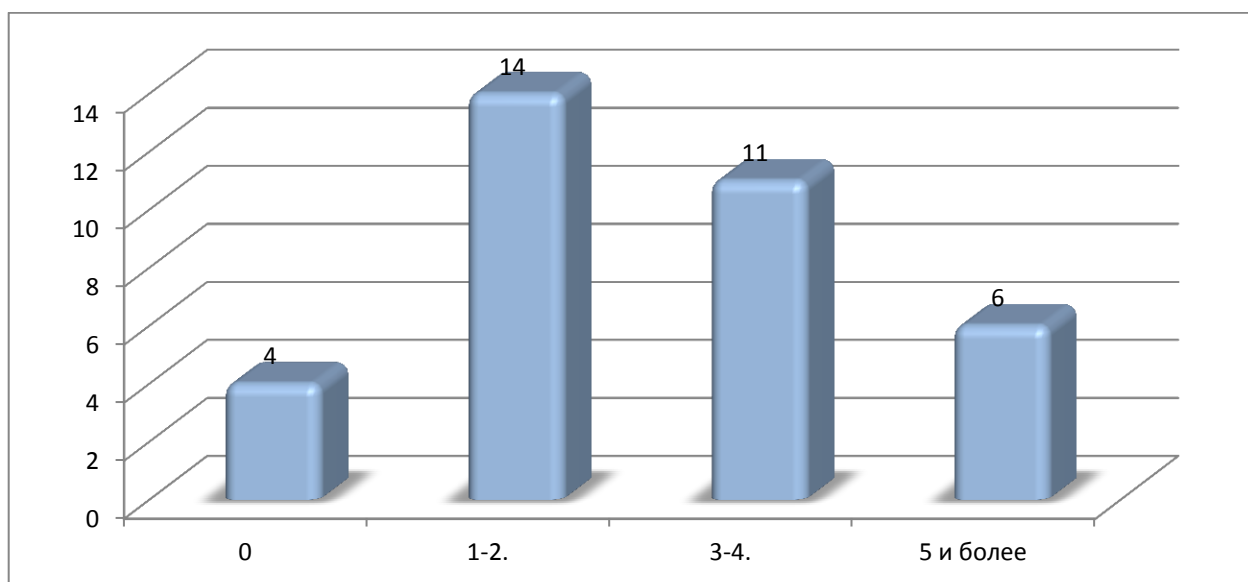


Рис.7. Распределение пациенток по количеству беременностей.

Сведения о гинекологических заболеваниях пациенток основной группы представлены в табл. 15.

Таблица 15. Сопутствующие гинекологические заболевания в анамнезе

Заболевания	Частота	
	<i>n=41</i>	%
Миома матки	3	7,32
- аденомиоз - наружный генитальный эндометриоз	2	4,88
Параовариальная киста	0	-

Хронический сальпингоофорит	2	4,88
Рецидивирующий вульво-вагинальный кандидоз	0 0	- -
Хламидиоз	0	-
Генитальная герпетическая инфекция	0	-
Бактериальный вагиноз	0	-
Эктопия шейки матки	3	7,32
Патология эндометрия	7	17,07
Гиперплазия эндометрия	5	12,19
Хронический эндометрит	0	-
Полип эндометрия	2	4,9
Полип цервикального канала	4	9,76
Киста бартолиновой железы	0	-

Молочные железы были развиты нормально у всех пациенток. Не было выявлено изменений со стороны молочных желез с началом заболевания. Для оценки состояния молочных желез всем обследованным (41) было произведено маммографическое исследование. У 7 (17,11%) выявлена фиброзно-кистозная мастопатия, у 12 (29,27%) - фиброзно-жировая трансформация, у 22 (53,66%) - патологии не выявлено.

2.2.2. Лабораторные методы исследования

2.2.2.1. Гормональные методы исследования

Функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы оценивали по содержанию в сыворотке крови гипофизарных и стероидных гормонов. Всем пациенткам определяли концентрации в сыворотке крови ЛГ, ФСГ, Е2. Обследование проводилось в I фазе при сохраненном менструальном цикле и независимо от фаз при аменорее. Кровь брали из локтевой вены. Концентрацию гормонов определяли методом иммуноферментного или радиоиммунного

анализас помощью соответствующих тест-систем на автоматическом анализаторе «Cobar Core II». Полученные результаты интерпретировали согласно нормативнымпоказателям лаборатории. Концентрации гормонов в сыворотке крови выражали в международной системе СИ: ЛГ, ФСГ - МЕ/л, Е2 - пмоль/л. Исследование проводили в лаборатории клиники акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева.

2.2.2.2.Микроскопия мазков.

Для проведения микроскопического исследования мазки высушивают на воздухе, фиксируют и после этого окрашивают.

Приготовление мазков

Исследуемый материал распределяют тонким слоем по поверхности предметного хорошо обезжиренного стекла. Влагищное отделяемое, нанесенное на предметное стекло ближе к узкому краю, накрывают другим предметным стеклом. Стекла слегка придавливают друг к другу.

После этого свободные концы стекол захватывают I и II пальцами обеих рук и разводят в противоположные стороны так, чтобы при движении оба стекла плотно прилегали друг к другу. Таким образом, получают мазки с равномерно распределенным материалом.

Высушивание и фиксирование мазков

Приготовленный на предметном стекле мазок высушивают на воздухе и после полного высыхания фиксируют. При фиксировании мазок закрепляется на поверхности предметного стекла, и поэтому при последующей окраске препарата микробные клетки не смываются. Кроме того, убитые микробные клетки окрашиваются лучше, чем живые.

Различают физический способ фиксации, в основу которого положено воздействие высокой температуры на микробную клетку, и химические способы, предусматривающие применение химических средств, вызывающих коагуляцию белков цитоплазмы.

- Физический способ фиксации

Предметное стекло с препаратом берут пинцетом или I и II пальцами правой руки за ребра мазком кверху и плавным движением проводят 2-3 раза над верхней частью пламени горелки. Весь процесс фиксации должен занимать не более 2с. Надежность фиксации проверяют следующим приемом: свободную от мазка поверхность предметного стекла прикладывают к тыльной поверхности левой кисти. При правильном фиксировании мазка стекло должно быть горячим, но не вызывать ощущения ожога.

- Химический способ фиксации

Для фиксации мазков применяют также химические вещества и соединения - этиловый (винный) спирт 960, ацетон, смесь Никифорова (смесь спирта и наркозного эфира в соотношении 1:1), жидкость Карнуа (спирта 96% 60 мл, хлороформа 30 мл, ледяной уксусной кислоты 10 мл).

Предпочтительнее считается щадящая химическая фиксация (ацетон, смесь Никифорова, жидкость Карнуа) [15].

Предметное стекло с высушенным мазком погружают в склянку с фиксирующим веществом на 10-15 минут и затем высушивают на воздухе.

Далее проводится классическая окраска мазка по методу Грама. Для проведения этой окраски могут быть использованы специальные коммерческие красители, например, фирмы BioMerioux или красители, приготовленные непосредственно в лаборатории.

Окраска по Граму

Окраска по Граму относится к сложному способу окраски. При сложных способах окраски на мазок воздействуют двумя красителями, из которых один является основным, а другой – дополнительным. Кроме красящих веществ, при сложных способах окраски применяют различные обесцвечивающие вещества: спирт, кислоты и т.д.

Особенностью окраски по Граму является неодинаковое отношение различных микроорганизмов к красителям трифенилметановой группы: генциановому, метиловому или кристаллическому фиолетовому. Микроорганизмы, входящие в группу грамположительных (Грам+), например

стафилококки, стрептококки, дают прочное соединение с указанными красителями и йодом. Окрашенные микроорганизмы не обесцвечиваются при воздействии на них спиртом, вследствие чего при дополнительной окраске фуксином Грам(+) микроорганизмы не изменяют первоначально принятый фиолетовый цвет. Грамотрицательные (Грамм-) микроорганизмы (бактероиды, фузобактерии и др.) образуют с генциановым кристаллическим или метиленовым фиолетовым и йодом легко разрушающееся под действием спирта соединение, в результате чего они обесцвечиваются и затем окрашиваются фуксином, приобретая красный цвет.

Отношение микроорганизмов к окрашиванию по Граму имеет большое диагностическое значение.

Приготовление растворов

Кристаллический фиолетовый (фуксин Циля карболовый) – карболовый раствор: 1г кристаллического метилового фиолетового растирают в фарфоровой ступке с 5г кристаллической карболовой кислоты и несколькими каплями глицерина. Во время растирания небольшими порциями прибавляют 10 мл спирта. После того как краситель хорошо разотрется, прибавляют при постоянном помешивании 100 мл дистиллированной воды. Раствор красителя фильтруют через влажный бумажный фильтр. Фуксин очень стойкий и может храниться долгое время во флаконе темного стекла с притертой пробкой.

Раствор Люголя – 2 г йодида калия растворяют в 5-10 мл дистиллированной воды, затем прибавляют 1г кристаллического йода, оставляют на несколько часов до полного его растворения и после этого приливают приливают 295-290 мл дистиллированной воды.

Фуксин спирто-водный (раствор Пфейфера) – к 1 части карболового фуксина Циля приливают 9 частей дистиллированной воды. Раствор очень не стойкий, поэтому его готовят в небольших количествах непосредственно перед употреблением.

Методика окраски

1. Фиксированный мазок окрашивают через фильтровальную бумагу основным красителем – раствором основного карболового кристаллического фиолетового. Прокрашивание длится 1-2 минуты.

2. Снимают бумагу, сливают избыток красителя и, не промывая препарата водой, наливают раствор Люголя на 1-2 минуты до почернения препарата.

3. Раствор Люголя сливают. Предметное стекло для обесцвечивания мазка погружают несколько раз в стаканчик со спиртом, процесс обесцвечивания считается завершенным, когда от мазка перестают отделяться окрашенные в фиолетовый цвет струйки жидкости.

4. Препарат тщательно промывают водопроводной водой.

5. Докрашивают спирто-водным раствором фуксина.

Прокрашивание длится 1-2 минуты.

Результаты окраски

Грам(+) микроорганизмы окрашиваются основным красителем в темно-фиолетовый цвет, Грам(-), воспринимая дополнительную окраску, приобретают ярко-малиновый цвет.

К недостаткам этого метода окраски следует отнести определенные трудности при отнесении выявленных микроорганизмов к Грам(+) или Грам(-) по цвету из-за их неоднородного прокрашивания ввиду возможности присутствия в вагинальном мазке большого количества слизи и разнообразных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. В этой связи Мавзютов А. Р. и соавт. предложили использовать для микроскопической диагностики окраску метиленовым синим [15].

Окраска метиленовым синим

Приготовление растворов:

- Раствор "А": 2,5 г кристаллического фиолетового растворить в 250 мл дистиллированной воды (годен 3-4 недели);

- Раствор "Б": 12,5 г натрия карбоната растворить в 250 мл дистиллированной воды (годен 2 нед., до выпадения кристаллов);

- Раствор йода: 1 г натрия гидроксида растворить в 7 мл дистиллированной воды, затем добавить 5 г кристаллического йода и 0,25 калия йодида, к полученному раствору добавить дробно 243 мл дистиллированной воды;
- Смывная жидкость для обесцвечивания: 75 мл ацетона добавить к 175 мл этилового спирта;
- Раствор сафранина: 5 г сафранина растворить в 15-20 мл этилового спирта и добавить до 250 мл дистиллированной воды.

Окраска мазков

1. Мазки фиксируют над пламенем горелки. На свободную от исследуемого материала часть стекла одновременно наносят по 6 капель растворов "А" и "Б". Смешивают стеклянной палочкой и равномерно распределяют по стеклу. Экспозиция – 2 мин.
2. Удаляют остатки краски и наносят раствор йода на 2 мин.
3. Удаляют остатки йода и наносят 10-20 капель смывной жидкости, повторяют манипуляцию до полного обесцвечивания, постоянно покачивая стекло.
4. Промывают водопроводной водой.
5. Докрашивают сафранином 2 мин.
6. Промывают водой, просушивают, микроскопируют.

Результаты окраски

При использовании данной окраски происходит оптимальное прокрашивание препарата метиленовым синим грамположительной флоры в голубые тона и грамотрицательной - в интенсивный иссиня-черный цвет.

Непосредственную микроскопию лучше проводить под относительно небольшим увеличением (окуляр х 2-7) с целью увеличения поля зрения и максимального охвата всех присутствующих в материале объектов.

С учетом современных достижений клинической бактериологии и знаний инфекционной патологии женских половых органов Кира Е. Ф. в 1994 году была разработана оригинальная классификация микроскопической характеристики

биоценоза влагалища, в которой представлена микроскопическая характеристика 4 типов биоценоза влагалища и соответствующие каждому типу нозологические формы:

Нормоценоз

Доминирование лактобактерий, отсутствие грамотрицательной микрофлоры, спор, мицелия, псевдогифов, наличие единичных лейкоцитов и единичных "чистых" эпителиальных клеток соответственно фазе менструального цикла. Типичное состояние нормального биотопа влагалища.

Промежуточный тип

Умеренное или незначительное количество лактобактерий, наличие грамположительных кокков, грамотрицательных палочек. Обнаруживаются лейкоциты, моноциты, макрофаги, эпителиальные клетки.

Часто наблюдается у здоровых женщин, редко сопровождается субъективными жалобами и клиническими проявлениями.

Дисбиоз влагалища

Незначительное количество или полное отсутствие лактобактерий, обильная полиморфная грамотрицательная и грамположительная палочковая и кокковая микрофлора; наличие "ключевых" клеток. Количество лейкоцитов варьируемо, отсутствие или незавершенность фагоцитоза. Полимикробная картина мазка.

БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ВАГИНОЗ

Вагинит

Большое количество лейкоцитов, макрофагов, эпителиальных клеток, выраженный фагоцитоз, морфологический пейзаж воспалительного процесса.

Неспецифический вагинит

При обнаружении: гонококков, трихомонад, мицелия, псевдогифов, спор выставляется соответствующий этиологический диагноз – Гонорея, Трихомониаз, Микотический вагинит [7, 8].

Предложенная классификация достаточно проста и информативна, так как сочетает в себе микробиологическую интерпретацию влагалищного мазка,

характеристику клинической картины и соответствующую нозологическую форму.

2.2.2.3. Посев секрета влагалища и мочи.

Одним из методов лабораторной диагностики, который позволяет в полной мере оценить качественные и количественные характеристики микрофлоры влагалища является бактериологическое исследование. С развитием этого метода изменялось и представление о составе микрофлоры влагалища. Усовершенствование бактериологического метода диагностики – улучшение качества питательных сред, методов культивирования, различных техник выделения и идентификации микроорганизмов способствовали изменению представлений о критериях нормы. Первоначально было установлено, что наряду с лактобактериями в составе нормальной микрофлоры могут быть и условно-патогенные микроорганизмы (стафилококки, стрептококки, некоторые грамотрицательные бактерии) [13, 14]. Внедрение с начала 70-х годов техники анаэробного культивирования привнесло новые существенные коррективы в понятие "нормальная" вагинальная микрофлора. По мере совершенствования анаэробной техники и идентификации строгих анаэробов заметно расширился спектр микроорганизмов, входящих в состав нормальной вагинальной микрофлоры [16, 17].

Важным фактором, значительно влияющим на успех бактериологической диагностики БВ, является корректный способ взятия и транспортировки исследуемого материала. Так, взятие материала должно всегда осуществляться до начала лечения биотерапевтическими или антибактериальными препаратами или не ранее чем через 10 дней после окончания их приема, а также до начала проведения других местных терапевтических вмешательств. Накануне взятия материала пациентка не должна иметь половую связь. Для предотвращения гибели бактерий, чувствительных к различным факторам окружающей среды, и во избежание размножения в исследуемом материале бактерий-комменсалов транспортировка взятого материала в лабораторию должна осуществляться в максимально короткие сроки и в специальных транспортных средах. В настоящее

время бактериологи располагают большим арсеналом коммерческих универсальных транспортных сред, которые способны сохранять в жизнеспособном состоянии весь спектр культивируемых микроорганизмов [17].

Взятие вагинального отделяемого производится микробиологическим тампоном, переносится в специализированную транспортную среду, обеспечивающую жизнеспособность микроорганизмов и отправляется в лабораторию для исследования. При работе с образцами мочи после взятия биоматериала часть образца переносится в специализированную транспортную среду. Для транспортировки биологического материала при бактериологическом исследовании на микоплазмы используют только специальные транспортные среды, содержащие лошадиную сыворотку и дрожжевой экстракт производства BioMerioux или Becton Dickinson.

В лаборатории полученные образцы засеваются на среду обогащения (тиогликолевая среда).

Степень роста определяется в пересчете на 1 мл вагинального отделяемого (КОЕ/мл). При полуколичественной оценке используется четыре уровня (градации) микробного обсеменения:

Со среды обогащения – рост только на жидкой среде, на плотной питательной среде рост отсутствует;

Скудный рост – на плотной питательной среде рост до 10 колоний микроорганизмов определенного вида;

Умеренный рост – на плотной питательной среде рост от 10 до 100 колоний микроорганизмов одного вида;

Обильный рост – на плотной питательной среде рост более 100 колоний микроорганизмов одного вида.

Посев проводится на набор стандартных коммерческих питательных сред, позволяющих выявить максимально возможный спектр микроорганизмов

Для выделения стафилококков используют коммерческую среду *Staphylococcus agar* (Becton Dickinson). Стрептококки выделяют на среде *Columbia agar* (BioMerioux, Becton Dickinson, Oxoid) с добавлением лошадиной

или бараньей дефибринированной крови (5%), налидиксовой кислоты (15 мг/л) и колистина (10 мг/л). Кроме стрептококков на этой среде растут коагулазопозитивные стафилококки. В связи с этим, перед идентификацией бактерии необходимо исследовать на наличие каталазы. Для выделения энтерококков (стрептококки группы D) используют Enterococcus agar (Serva), Enterococcus agar (Difco), Slanes and Bartley agar. Для выделения грамотрицательных неспорообразующих факультативно-анаэробных бактерий используют среды MACCONKEY agar или Эндо (Oxoid, BioMerioux, Becton Dickinson). Для выделения дрожжеподобных грибов используется среда Сабуро с добавлением хлорамфеникола (400 мг/л). При проведении количественного исследования посев производят из разведения 10^{-3} . Инкубация посевов проводится в течение 24-48 часов при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. Для выделения *G.vaginalis* используют коммерческие селективные питательные среды Columbia CNA agar (Becton Dickinson), Gardnerella vaginalis agar (Oxoid) или HBT Bilayer medium (BBL) в которые добавляется 10% бараньей или донорской крови. Инкубация посевов проводится при $+37^{\circ}\text{C}$ в атмосфере с 5% CO_2 в течение 48 часов. Для культивирования, идентификации, количественного определения и определения чувствительности к антибиотикам микоплазм используются тест-системы - Mycoplasma DOU (Sanofi Diagnostics Pasteur) или Mycoplasma IST (BioMerioux). Для выделения лактобактерий используют агаризованные среды MRS (Difco, Oxoid). При количественном методе исследования посев проводят из разведений 10^{-3} и 10^{-5} . Для того чтобы избежать роста дрожжеподобных грибов рода *Candida* в средудобавляют раствор сорбиновой кислоты в 1 М NaOH из расчета 14 г/л, простерилизованную фильтрованием. Инкубацию проводят в анаэроостате с газовой смесью без палладиевого катализатора при $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 48 часов. Выделение бактерий рода *Mobiluncus* проводят с использованием Columbia agar Base с добавлением 2,5% лошадиной сыворотки, 15 мкг/мл налидиксовой кислоты и 1,0 мкг/мл тинидазола. Для выделения клостридий используют плотную среду RCM (Oxoid).

Учет результатов бактериологических исследований автоматизирован. Все микроорганизмы, которые удалось культивировать на протяжении 5 дней, поступают в масс-спектрометр. Масс-спектрометрия - физический метод идентификации молекул путем измерения отношения их массы к заряду (m/z) в ионизированном состоянии. Для этого используются законы движения заряженных частиц в магнитном или электрическом поле. В масс-спектрометре спектр полученного от колонии излучения сравнивается со стандартными спектрами, содержащимися в базе данных. Информация в базе данных организована в виде так называемых СуперСпектров (Superspectra™). В базе данных содержатся суперспектры более чем для 1600 видов и 230 родов различных микроорганизмов.

Однако, бактериологический метод исследования не универсален, пределы его возможностей весьма ограничены и зачастую зависят от ряда субъективных факторов, таких как оснащенность бактериологической лаборатории, качество используемых для выделения микроорганизмов питательных сред, уровень подготовки бактериологов и т.д. Поэтому результаты исследований различных авторов значительно варьируют и в настоящее время пока еще не определены четкие критерии "нормофлоры" влагалища, пограничных и патологических состояний. А это, в свою очередь, создает определенные трудности в постановке диагноза, прогнозировании тяжести течения патологического процесса и возможности его осложнений, а также в назначении адекватной этиотропной терапии.

2.2.2.4.Изучение биоценоза влагалища (тест Фемофлор)

Все более широкое применение в практике врача-клинициста находят молекулярно-биологические методы исследования, в частности – полимеразная цепная реакция. ПЦР - это молекулярно биологический метод прямой диагностики, обладающий высокой чувствительностью и специфичностью. На сегодняшний день метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) широко используется в российской лабораторной практике для выявления патогенных и условно патогенных микроорганизмов урогенитального тракта – *Gardnerella*

vaginalis, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* и т.д. Однако «классическая» ПЦР с регистрацией результата по окончании реакции не предполагает количественной характеристики микробного сообщества и не дает представления о соотношении микроорганизмов в исследуемом материале. В то же время дисбиотические процессы характеризуются нарушением соотношений нормальной и условно патогенной микрофлоры. Метод ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени позволяет проводить многофакторный количественный анализ условно-патогенной микрофлоры урогенитального тракта, что является принципиально новым подходом к диагностике воспалительных заболеваний и дисбиотических состояний нижних отделов мочеполовых органов женщины и может служить чувствительным инструментом для исследования микробиоценоза влагалища, микробного пейзажа цервикального канала и уретры.

До настоящего времени существенным ограничением применения ПЦР для описания нормального биоценоза являлось большое видовое разнообразие микрофлоры урогенитального тракта женщины. Традиционный подход, направленный на выявление определенных видов микроорганизмов либо становится малоинформативным, либо очень затратным и трудоемким. ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (тест Фемофлор), заключающаяся в определении широких групп микроорганизмов и использовании мультиплексной системы детекции, позволяет при сохранении высокой технологичности и умеренной стоимости исследования достичь высокой информативности, за счет количественного описания биоценоза урогенитального тракта, что делает его крайне эффективным для целей клинической лабораторной диагностики.

Тест Фемофлор содержит в себе следующие показатели: контроль взятия биоматериала (КВМ - показатель количества эпителиальных клеток в образце), анализ общей обсемененности биотопа (показатель – общая бактериальная масса), количественную оценку нормальной микрофлоры влагалища, трех групп факультативно-анаэробных микроорганизмов и 9 групп облигатно-анаэробных

микроорганизмов, молликутов и дрожжеподобных грибов. Контроль взятия материала позволяет контролировать качество преаналитического этапа (т.е. качество взятия биоматериала врачом-клиницистом), т.к. известно, что абсолютное большинство ошибок лабораторных исследований совершается еще до поступления анализа в лабораторию.

Показаниями к назначению теста является оценка качественного и количественного состава микроорганизмов, составляющих микробиоценоз влагалища у женщин репродуктивного возраста, в том числе при беременности, а именно:

- определение этиологической причины дисбиотического состояния (что делает возможным осуществление направленной этиотропной терапии);
- определение степени выраженности дисбиотических нарушений (в результате чего становится возможной индивидуализация объема терапии);
- оценка эффективности проводимой терапии и результатов лечения;
- мониторинг восстановления нормальной микрофлоры влагалища.

Противопоказаниями к назначению теста являются:

- Ранее, чем через 24-48 часов после кольпоскопии.
- Ранее, чем через 24 часа после УЗ-исследования с помощью влагалищного датчика.
- Ранее, чем через 2 недели после применения лекарственных препаратов (пробиотики, эубиотики), содержащих микроорганизмы.
- Клинические ситуации, при которых исследование с использованием набора реагентов Фемофлор® по основным показаниям ограничено:
 - На фоне менструального кровотечения.

- Ранее, чем через 10 дней после применения антибактериальных препаратов или местных антисептических средств.
- На фоне применения гонадотропин-рилизинг-гормонов
- Хирургическая кастрация.
- Лактационная аменорея.
- Клинические ситуации, при которых исследование с использованием набора реагентов Фемофлор® по дополнительным показаниям невозможно:
- Если клинически значимые количества микроорганизмов в исследуемом биоматериале менее уровня отрицательного контроля для соответствующего микроорганизма, в том числе исследование нормально стерильных сред и биотопов.
- В случае попадания в исследуемый образец лекарственных препаратов, влияющих на возможность/эффективность выделения нуклеиновых кислот из биологического образца и/или прохождение реакции амплификации (ультразвуковой контактный гель, гепарин и т.п.).

Комплексный подход позволяет врачу-клиницисту получить максимально полную качественную и количественную оценку исследуемого биотопа, выявить этиологическую причину дисбиотических нарушений, кроме того, количественная оценка позволяет проводить динамические наблюдения и контролировать восстановление нормальной микрофлоры. Среди недостатков метода следует отметить отсутствие антибиотикочувствительности для выявленных микроорганизмов и более высокую стоимость относительно микроскопического и бактериологического исследований.

Материал для исследования биоценоза урогенитального тракта (для теста Фемофлор) собирали с заднебоковой стенки влагалища в пробирку Эппендорф, содержащую 1 мл транспортной среды, хранение и транспортировку материала проводили согласно действующим нормативным документам. ДНК микроорганизмов урогенитального тракта выделяли с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Исследование

биоценоза влагалища проводили методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием реагентов Фемофлор (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) в детектирующем амплификаторе ДТ-96 согласно инструкции производителя (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Технология Фемофлор® позволяет проводить качественный и количественный анализ показателей состояния биоценоза урогенитального тракта у женщин. Количественный анализ реализуется в двух форматах: **абсолютный** - количество ДНК искомого микроорганизма в образце, выраженное в геном-эквивалентах (ГЭ) и пропорциональное количеству клеток микроорганизма, и **относительный**- количество соответствующей группы микроорганизмов к общей бактериальной массе (абсолютный $\times 100/\text{сумма всех выделенных МО}$), выраженное в двух форматах: десятичный логарифм (Lg) и проценты (%) (табл.17).

Таблица 17. Названия групп микроорганизмов и тип анализа Фемофлор® 16

Группа	Специфические компоненты комплекта реагентов	Тип анализа
Контроль	Положительный контроль	Абсолютный количественный
	Контроль взятия материала	Абсолютный количественный
Нормальная микрофлора	Общая бактериальная масса	Абсолютный количественный
	<i>Lactobacillus</i> spp.	Относительный количественный
Факультативно-анаэробные микроорганизмы (далее в алгоритме — аэробы)	сем. Enterobacteriaceae	Относительный количественный
	<i>Streptococcus</i> spp.	Относительный количественный
	<i>Staphylococcus</i> spp.	Относительный количественный
Облигатно-анаэробные микроорганизмы	<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas</i> spp.	Относительный количественный

(далее в алгоритме — анаэробы)	Eubacterium spp.	Относительный количественный
	Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.	Относительный количественный
	Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.	Относительный количественный
	Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	Относительный количественный
	Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.	Относительный количественный
	Peptostreptococcus spp.	Относительный количественный
	Atopobium vaginae	Относительный количественный
Микоплазмы	Mycoplasma hominis	Абсолютный количественный с отсечкой на 10^4
	Ureaplasma (urealyticum + parvum)	Абсолютный количественный с отсечкой на 10^4
Дрожжеподобные грибы	Candida spp.	Абсолютный количественный с отсечкой на 10^4
Патогенные микроорганизмы (патогены)	Mycoplasma genitalium	Качественный

Абсолютное количество ГЭ в образце приводится в первом столбце бланка результатов (рис.8).

Идентификатор образца: K+

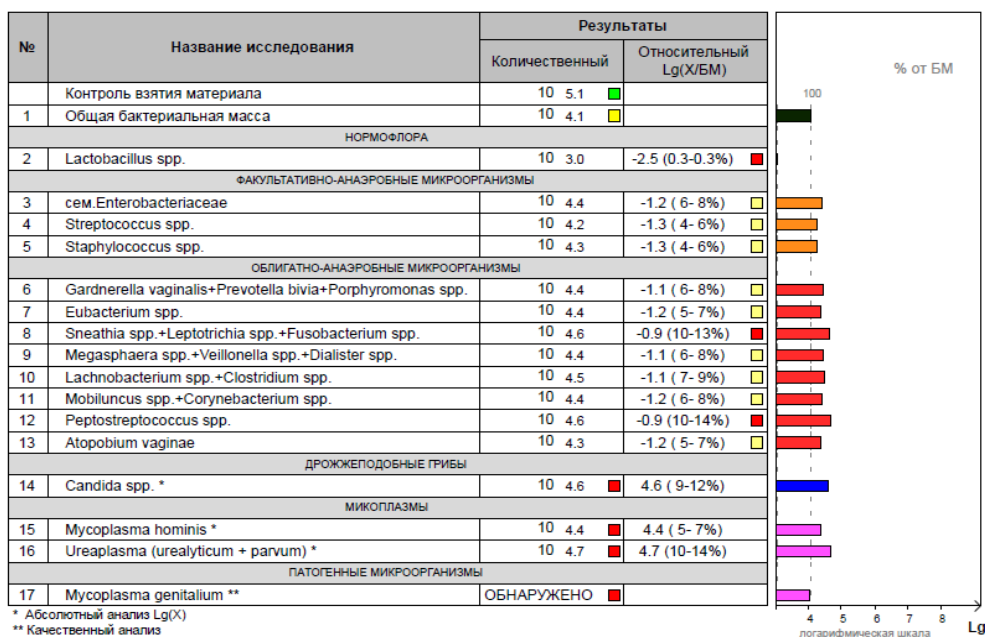


Рис. 8. Результат анализа с использованием набора реагентов Фемофлор®16 (на примере положительного контрольного образца «K+»)

Справа от таблицы результатов представлено количество ГЭ соответствующей группы микроорганизмов в виде линейчатой диаграммы с логарифмической шкалой. На верхней оси обозначены количества микроорганизмов, соответствующие 0,01%, 1% и 100% ОБМ. В случае, если доля группы микроорганизмов превышает 1%, соответствующий столбик на диаграмме выделяется цветом.

Каждый тип микроорганизмов на диаграмме окрашивается своим цветом:

- общая бактериальная масса
- лактобактерии
- факультативно-анаэробные микроорганизмы
- облигатно-анаэробные микроорганизмы
- микоплазма хоминис и уреаплазма
- дрожжеподобные грибы

Для удобства трактовки результатов в таблице используются цветовые маркеры в виде окрашенных квадратов. В зависимости от измеряемого параметра маркеры обозначают следующее:

1. Контроль взятия материала:

- ☐ - количество клеток человеческого эпителия в исследуемом образце более 10^4 ;
- ☒ - количество клеток человеческого эпителия в исследуемом образце менее 10^4 .

Количественные соотношения между исследуемыми группами микроорганизмов могут отличаться от истинного соотношения этих групп в «микробной пленке».

2. ОБМ

- ☒ - ОБМ менее $10^{6,0}$. Общая бактериальная обсемененность влагалища низкая. Количественные соотношения различных микроорганизмов могут определяться с большой погрешностью.
- ☐ - ОБМ более $10^{6,0}$. Общая бактериальная обсемененность достаточна для проведения относительного анализа.

3. ☐ - для всего относительного анализа, если не валидны пп. 1 и/или 2.

4. Нормофлора

- ☒ - нормоценоз (доля лактобактерий относительно ОБМ 80 -100%, или от 0 до -0,3 lg);
- ☐ - умеренный дисбиоз (доля лактобактерий от 20 до 80% , или от -0,3 до -1,0 lg);
- ☒ - выраженный дисбиоз (доля лактобактерий относительно общей бактериальной массы менее 20%, или -1,0 lg).

5. Факультативно- и облигатно-анаэробные микроорганизмы

- ☐ - доля микроорганизма менее 1% (менее -2,0 lg);
- ☐ - доля микроорганизма от 1% до 10% (от -2,0 до -1,0 lg);
- ☒ - доля микроорганизма более 10% (более -1,0 lg).

6. Микопlasма хоминис и уреapплазмы

- ☐ - микроорганизм не обнаружен;
- ☐ - микроорганизм обнаружен в количестве менее 10^4 ГЭ/образец;
- ☒ - микроорганизм обнаружен в количестве более 10^4 ГЭ/образец.

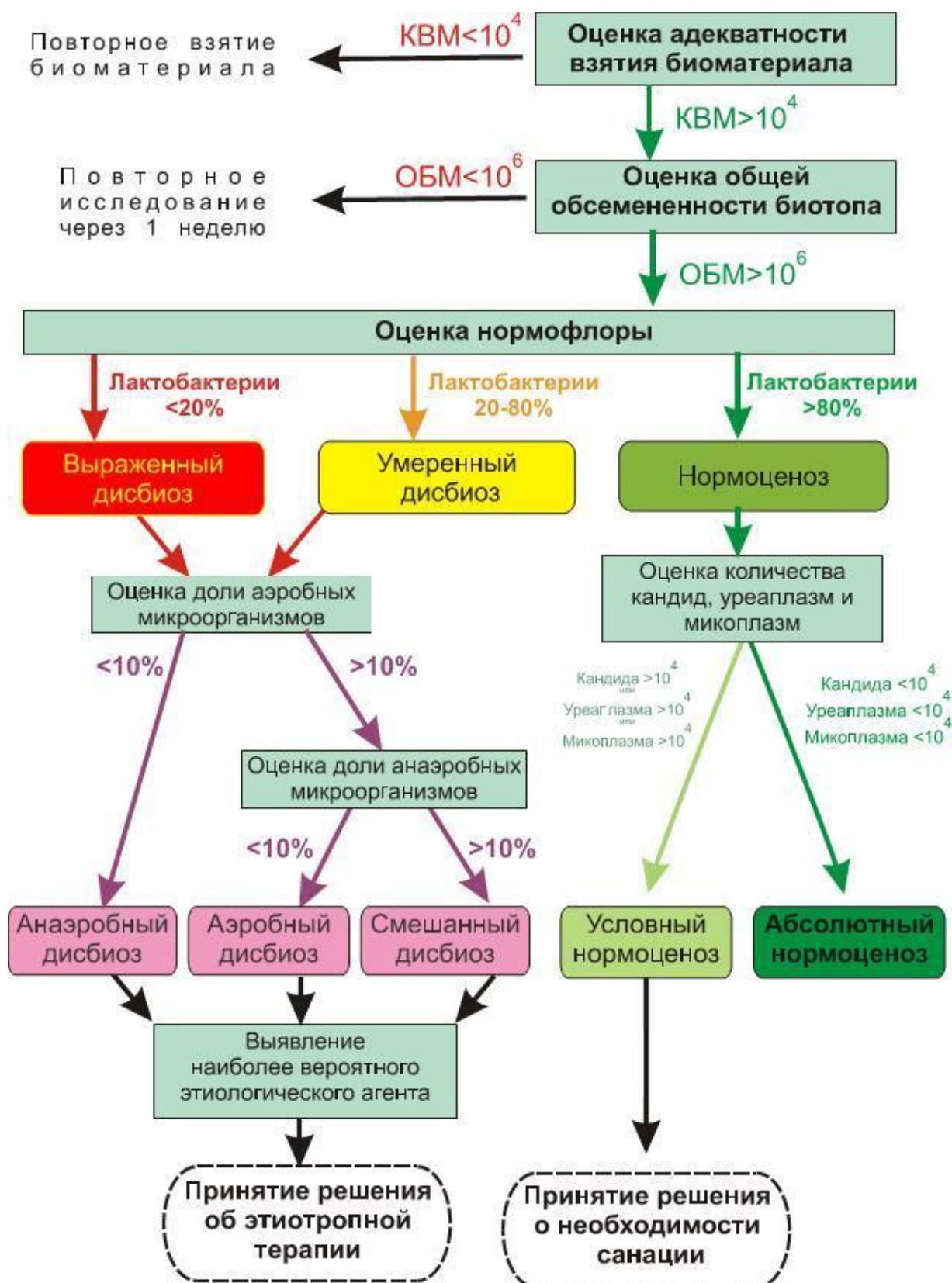
7. Дрожжеподобные грибы

- ☐ - количество грибов ниже линейного диапазона (10^3 ГЭ/образец) ;
- ☐ - количество грибов находится в диапазоне 10^3 - 10^4 ГЭ/образец;
- ☒ - количество грибов более 10^4 ГЭ/образец.

8. Микоплазма генитальная

- ☐ - ДНК микроорганизма не выявлена;
- ☒ - ДНК микроорганизма **ОБНАРУЖЕНА.**

Классификацию вариантов биоценоза осуществляли в соответствии с предложенным алгоритмом (рис.9).



2.3. Статистическая обработка результатов

Статистический анализ полученных результатов проводился при помощи таблиц EXCEL и программного пакета Statistica версии 8.0. В качестве меры центральной тенденции количественных признаков была выбрана медиана, а в качестве интервальной оценки — верхний и нижний квартили, т.к. исследуемые выборки не подчиняются закону нормального распределения. Результаты представлены в виде медианы, 25-й и 75-й, 5-ый и 95-ый процентилей. Медиана вместе с квартилями в нашем случае использовалась для представления количественных непрерывных переменных с ненормальным распределением.

В настоящем исследовании объектом была количественная характеристика сложных, многокомпонентных сообществ (биоценоза влагиалища), значительно различающихся по своим свойствам, что определяло практическое отсутствие истинного значения параметра. В таких случаях рекомендовано определять не точное значение, а диапазон, в который укладывается большинство значений исследуемого признака, т.е. ширину распределения [21]. Поэтому оптимальным описанием ширины распределения в современных медицинских исследованиях принимается представление 95% доверительного интервала с указанием нижней (5%) и верхней (95%) границы.

Наиболее адекватная непараметрическая характеристика ширины доверительного интервала – это квантили. Квантили представляют собой частоту попаданий в определенные интервалы [21]. В нашем исследовании для представления ширины интервала, асимметрии и меры центральной тенденции были использованы медиана и квартили (квантили 25%, 50% и 75%). Подобный метод представления данных в данном случае является наиболее компактным и удобным.

Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ (допустимый исследователями уровень ошибки в 5 из 100 измерений). Если значение p было меньше 0,001, то p указывали в формате $p < 0,001$ или $p = 0,001$.

ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. ОСОБЕННОСТИ БИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДАМИ

3.1.Биоценоз влагалища пациенток репродуктивного возраста, на терапии глюкокортикоидами

На момент обследования пациентки из группы «патология» принимали терапию глюкокортикоидами в период от 1 года до 12 лет. Средний возраст в группе женщин, получавших терапию глюкокортикоидами составил $32,3 \pm 9,96$ года. Причинами назначения глюкокортикоидной терапии явились системная красная волчанка, антифосфолипидный синдром, системная склеродермия, геморрагический васкулит, эозинофильный гранулематоз, ревматоидный артрит, гломерулонефрит. Важно отметить, что на момент обследования ни одна из пациенток не предъявляла активных жалоб на состояние репродуктивной сферы. Только при тщательном и прицельном опросе о наличие некоторого дискомфорта «вспомнили» 13 пациенток (48,1%) .

Из них отмечали зуд и жжение в области наружных половых органов 6 (22,2%) пациенток, диспареунию 3 (11,1%) женщины, выделения – 9 (33,3%) пациенток. Не предъявляли никаких жалоб 14 (51,9%) женщин. В группе сравнения жалобы на выделения предъявляли 3 (11,1%) пациентки, жалоб на зуд, жжение и диспареунию в контрольной группе не было ни у одной женщины.

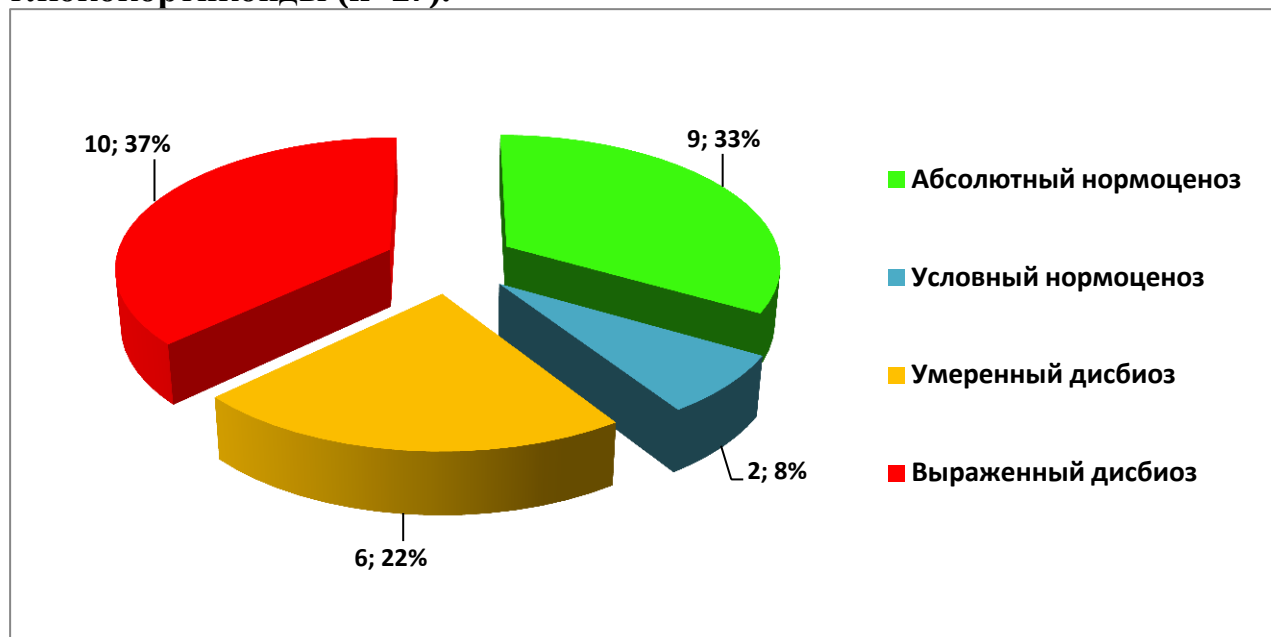
При микроскопическом исследовании отделяемого влагалища, у 3 (11,1%) пациенток обнаружили кокковую флору, у 11 (40,7%) женщин - смешанную, у 13 (48,1%) пациенток – палочковую. У 12 (44,4%) пациенток количество лейкоцитов варьировало в пределах от 5 до 10 в поле зрения, у остальных 15 (55,6%) женщин количество лейкоцитов не превышало 5 в поле зрения. Таким образом, в группе пациенток с глюкокортикоидной терапией несмотря на то, что у абсолютного большинства пациенток обнаружена кокковая и смешанная флора, ни у одной из них не наблюдалась микроскопическая картина, соответствующая вагиниту. Что,

вполне ожидаемо, т.к. глюкокортикоиды влияют на альтеративную и экссудативную фазы воспаления, препятствуя распространению воспалительного процесса. В группе сравнения только у 2 (7,4%) пациенток выявляли смешанную флору по результатам микроскопического исследования отделяемого влагалища, у 25 (92,3%) женщин обнаруживали палочковую флору (различия между группами составили $p < 0,0003$). В группе сравнения при оценке количества лейкоцитов у абсолютного большинства женщин (23 пациентки, 85,2%) определяли до 5 лейкоцитов в поле зрения, у 3 (11,1%) женщин количество лейкоцитов варьировало в пределах от 5 до 10 в поле зрения, и только у 1 (3,7%) количество лейкоцитов превысило 10 в поле зрения.

На рис. 10 представлена структура биоценозов влагалища у пациенток, принимающих глюкокортикоиды, по данным ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени.

По данным теста Фемофлор только у 11 (40,7%) пациенток нормальная микрофлора влагалища осталась сохранной и составляла не менее 80% от общей бактериальной массы. У 2 (7,4%) пациенток на фоне сохранной лактофлоры обнаруживали микроорганизмы рода *Ureaplasma*. У 16 (59,3%) женщин выявляли умеренные и выраженные дисбиотические нарушения. Выраженные дисбиотические нарушения обнаружили в 10 (38%) случаях, умеренные – в 6 (22%).

Рис. 10. Структура биоценозов влагалища пациенток, принимающих глюкокортикоиды (n=27).

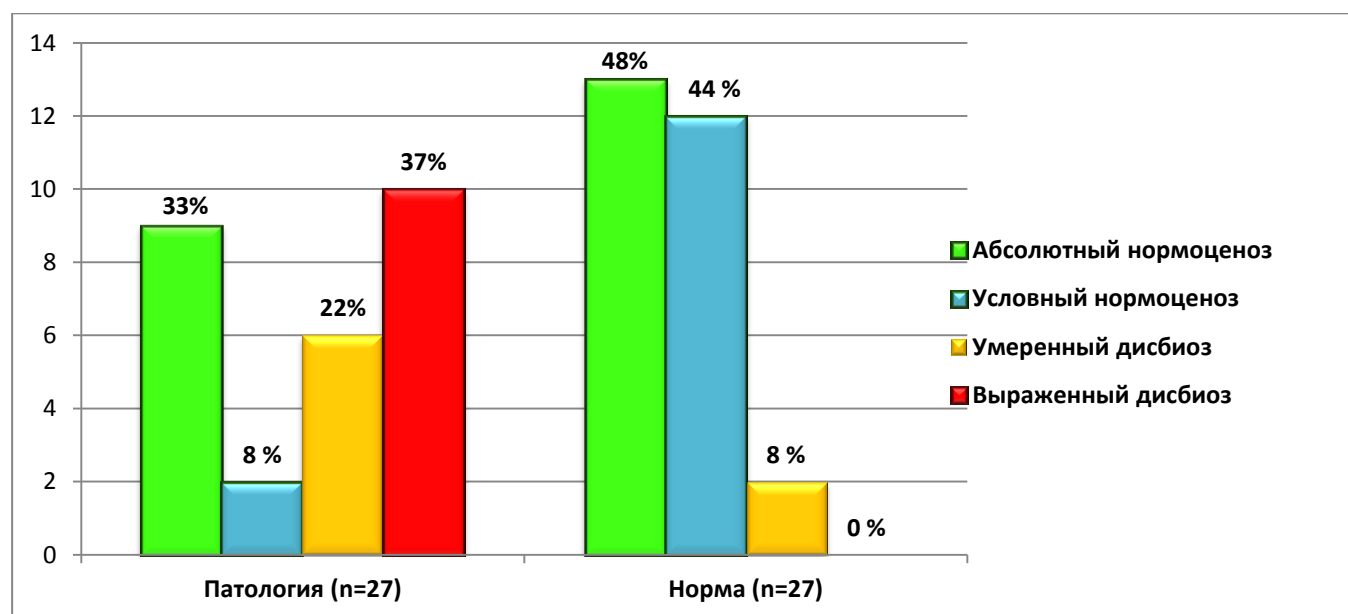


Сравнили структуру биоценоза влагалища по результатам ПЦР-РВ у женщин с терапией глюкокортикоидами с контрольной группой – женщинами, подобранными по принципу случай-контроль (рис.11).

В группе женщин, получающих терапию глюкокортикоидами, варианты биоценозов с сохранной нормофлорой встречались статистически значимо реже ($p=0,004$); условный и абсолютный нормоценоз выявили у 40,7% (11) женщин, а в группе сравнения этот показатель достиг 92,6 % (25 пациенток). Доля абсолютного нормоценоза в группе женщин с терапией глюкокортикоидами была почти в 1,5 раз ниже, чем в группе сравнения (33% и 48%, соответственно), а условный нормоценоз встречался более чем в 5 раз реже (8% и 44%, соответственно, $p=0,001$). В формировании условного нормоценоза в группе с терапией в 100% случаев принимали участие микроорганизмы рода *Ureaplasma*, в то время, как в группе сравнения условный нормоценоз в 67% случаев (8 женщин) формировался за счет присутствия *Ureaplasma spp.* в количествах более 10^4 ГЭ, в 25% случаев условный нормоценоз был обусловлен присутствием дрожжеподобных грибов, а у 1 пациентки (8%) выявляли одновременно и *Ureaplasma spp.* и *Candida spp.* в количествах более 10^4 ГЭ.

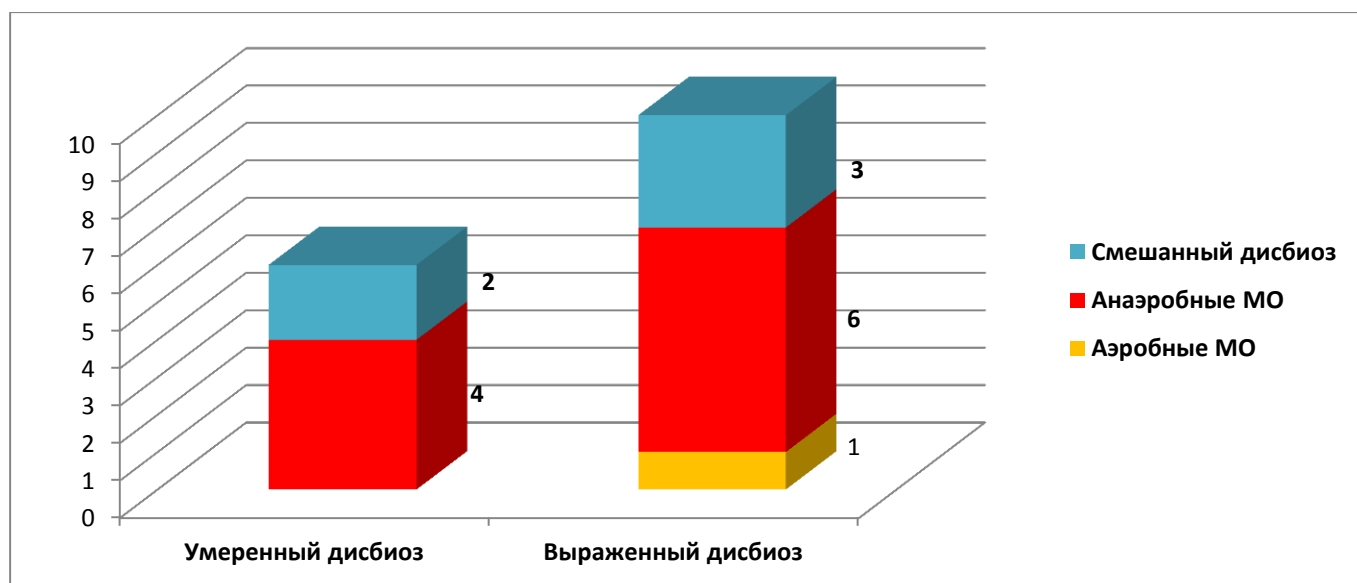
Доля дисбиотических нарушений в группе женщин, получающих терапию глюкокортикоидами, была значимо выше, чем в группе сравнения ($p=0,00028$) и составляла 59,3% и 7,4%, соответственно. При этом частота выявления умеренных дисбиозов между группами статистически не различалась и составила 22% (6 пациенток) для изучаемой группы и 8% (2 пациентки) для контрольной. В контрольной группе не было выявлено ни одного случая выраженных дисбиотических изменений, в то время как в группе пациенток, получающих глюкокортикоидную терапию, выраженные дисбиотические изменения показаны у 10 (37%) женщин ($p=0,00059$).

Рис. 11. Структура биоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста в зависимости от приема глюкокортикоидных препаратов.



В формировании умеренных и выраженных дисбиотических нарушений (рис.12) у женщин с терапией глюкокортикоидами, в большинстве случаев принимали участие облигатно-анаэробные микроорганизмы (4 пациентки, 67%).

Рис. 12. Структура умеренного и выраженного дисбиоза у женщин репродуктивного возраста, получающих терапию глюкокортикоидами.



В 2 случаях (33%) из 6 выявляли смешанные дисбиотические нарушения, когда в составе биоценоза факультативно-анаэробные микроорганизмы присутствовали в количестве не менее 10% от всех выделенных микроорганизмов. В структуре выраженных дисбиозов соотношение между факультативно- и облигатно-анаэробными микроорганизмами продолжило сохраняться, по-прежнему лидирующую роль в формировании дисбиотических нарушений играли облигатные анаэробы (60% случаев – только облигатно-анаэробные микроорганизмы, 30% - в составе смешанных дисбиозов), и только у 1 пациентки (10% случаев) выявили выраженные дисбиотические нарушения, ассоциированные с аэробными микроорганизмами. Таким образом, ведущую роль в формировании как умеренных, так и выраженных дисбиотических нарушений играют облигатно-анаэробные микроорганизмы, в 1/3 случаев в составе смешанных дисбиозов и в 2/3 случаев – изолированно. В группе сравнения в формировании умеренных дисбиотических нарушений в 50% случаев (1 пациентка) принимали участие факультативно-анаэробные, а в 50% случаев – облигатно-анаэробные микроорганизмы. Статистически значимых различий между группами по этому параметру нами обнаружено не было.

Анализ количественного состава биоценозов у женщин, получавших терапию глюкокортикоидами показал статистически значимое снижение количества бактерий в биоценозе (примерно в 10 раз относительно контрольной группы, $p < 0,0001$) (табл.18). На фоне снижения бактериальной массы в группе с терапией выявляли снижение количества лактобактерий по сравнению с контрольной группой ($p < 8,7 \cdot 10^{-7}$), что соотносится с данными о присутствии у этих пациенток умеренных и выраженных дисбиотических нарушений биоценоза влагалища.

Таблица 18. Количественный состав биоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста вне беременности в зависимости от терапии глюкокортикоидами (n=27)

Показатель	<i>Группа женщин с терапией глюкокортикоидами (n=27)</i>			<i>Контрольная группа(n=27)</i>		
	Мед иана , Lg ГЭ	25 – 75 процен тиль, Lg ГЭ	5 – 95 процен тиль, Lg ГЭ	Мед иана , Lg ГЭ	25 – 75 процен тиль, Lg ГЭ	5 – 95 процен тиль, Lg ГЭ
Общая бактериальная масса	6,7*	6,2–7,2	5,1-8,3	7,7	7,1–8,1	6,7-8,6
Lactobacillus spp.	6,1**	5,1–6,4	3,3-7,2	7,5	7,1–7,8	6,6-8,6
сем. Enterobacteriaceae	3,2	0,0 -5,0	0,0-7,9	3,2	2,7–3,3	2,3-4,0
Streptococcus spp.	2,9	2,3–3,6	1,6-4,6	2,9	2,4–3,6	1,2-5,5
Staphylococcus spp.	3,5	2,2–4,0	0,9-4,5	3,3	2,7–4,2	1,9-5,4
Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia+Porphyromonas spp.	4,4	3,2–6,1	0,0-7,3	3,9	3,3–4,4	2,2-5,3
Eubacterium spp.	4,1	3,0–5,7	0,0-6,7	4,1	3,3–4,7	0,8-5,5

Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+ Fusobacterium spp.	2,6	1,1–3,1	0,0-6,0	2,5	1,8–3,2	0,0-3,8
Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.	3,3	0,0–4,7	0,0-6,2	2,2	0,8-3,2	0,0-4,1
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	2,7	1,8–3,9	0,0-4,6	2,8	2,6–3,8	0,0-4,6
Mobiluncus spp.+ Corynebacterium spp.	3,0	1,9–3,8	0,0-5,3	3,3	2,9–4,5	1,8-5,5
Peptostreptococcus spp.	2,8	1,9–4,3	1,1-5,4	3,3	2,4–4,1	0,5-4,6
Atopobium vaginae	2,6	1,8–2,9	1,3-4,8	2,6	1,4–3,1	0,0-3,8
Mycoplasma hominis	0,0	0,0–0,0	0,0-1,2	0,0	0,0–0,0	0,0-0,4
Ureaplasma (urealyticum+parvum)	2,3	0,0–4,1	0,0-5,3	2,4	0,0–4,2	0,0-5,3
Candida spp.	2,7	2,1–3,1	0,5-4,5	3,1	2,9–3,4	1,2-4,7

* p<0,0001

** p<8,7*10⁻⁷

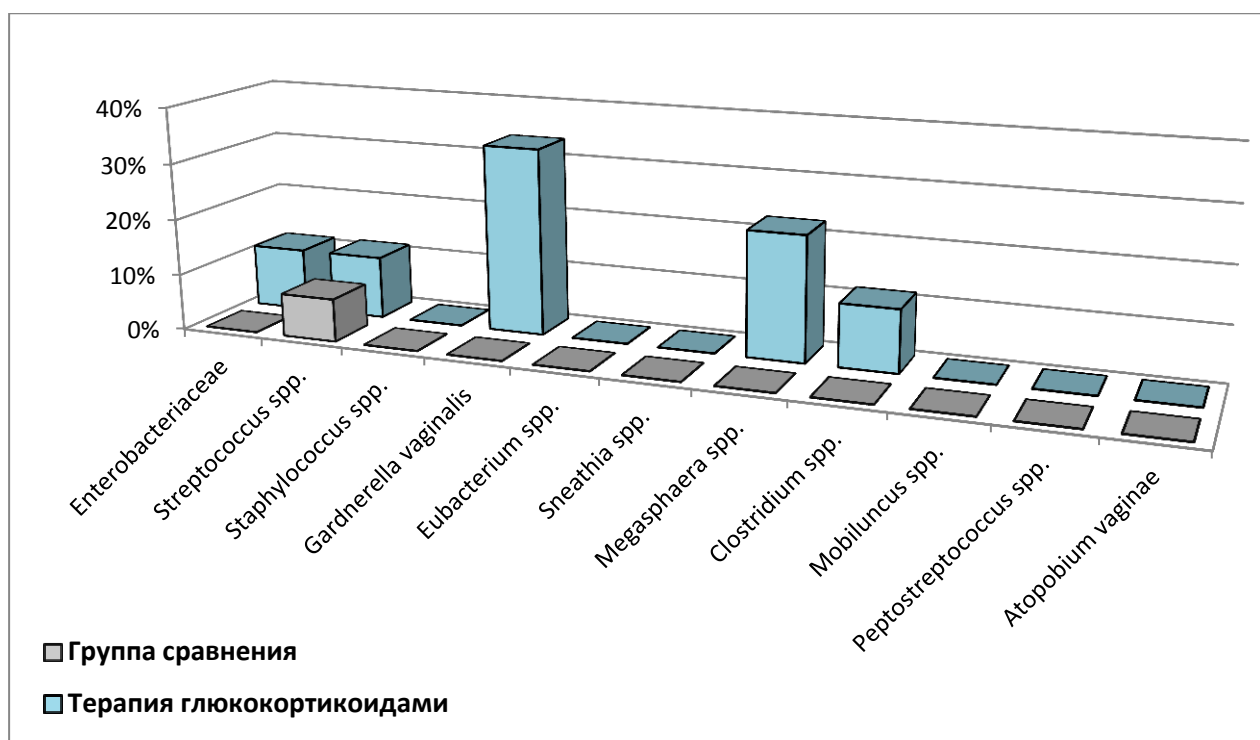
По остальным исследованным микроорганизмам в биоценозах нами статистически значимых различий между группами обнаружено не было, но при анализе 5 и 95 процентиля было замечено, что в группе женщин с терапией для микроорганизмов сем. *Enterobacteriaceae*, групп *Gardnerellavaginalis/Prevotellabivia/Porphyromonasspp.*, *Eubacteriumssp.*, *Sneathiaspp./Leptotrichiaspp./Fusobacteriumssp.*, *Megasphaeraspp./Veillonellaspp./Dialisterspp.* разбросы значений по количеству микроорганизмов были значительно больше, чем в группе сравнения. Можно предположить, что при анализе большей выборки, именно по этим показателям будут выявлены статистически значимые различия.

В то время в развитие дисбиотических нарушений в биоценозах пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами, значительный вклад вносят

представители облигатно-анаэробной флоры (*Gardnerellavaginalis*, *Eubacterium*spp. *Sneathiaspp.*, *Megasphaera*spp. и другие) и микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae*, то по количеству *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Mobiluncus spp.*+ *Corynebacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Atopobium vaginae* обследованные группы практически не различались между собой.

Для определения роли отдельных представителей условно-патогенной микрофлоры в формировании различных вариантов биоценоза влагалища оценили частоту их выявления в диагностически значимых количествах - в биоценозе доля микроорганизма составляла более 1% от суммы всех выделенных микроорганизмов. Различия между группами по количеству участников биоценоза были статистически значимыми ($p=2,8 \cdot 10^{-16}$). На фоне абсолютного преобладания лактобактерий и отсутствия молликутов и дрожжеподобных грибов (абсолютный нормоценоз) в группе женщин, получавших терапию глюкокортикоидами, у каждой третьей пациентки выявляли *Gardnerellavaginalis* в количестве более 1%, в 22% случаев обнаруживали *Megasphaera*spp. (рис.13), а в 11% - микроорганизмы сем. *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.* и *Clostridium*spp. В группе сравнения только у 1 пациентки (7,6%) обнаружили микроорганизмы рода *Streptococcus spp.* в количестве 1,5% от всех микроорганизмов биоценоза.

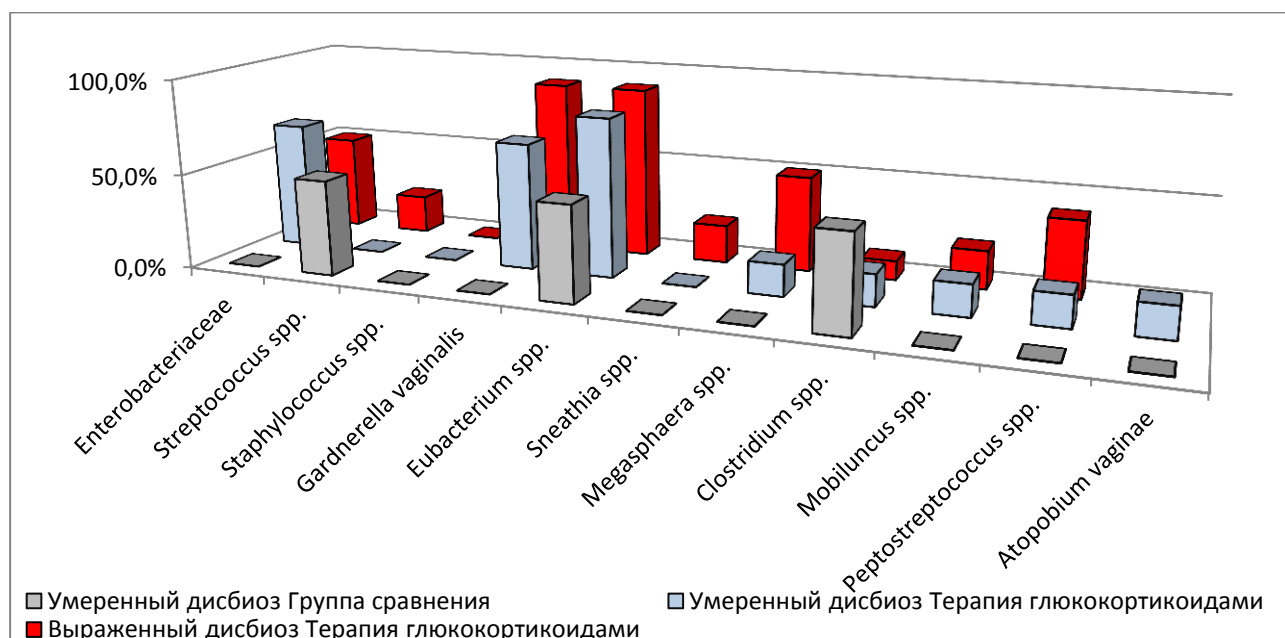
Рис.13. Частота выявления условно-патогенных микроорганизмов в диагностически значимых количествах (более 1% от всех микроорганизмов) у пациенток с абсолютным нормоценозом в зависимости от терапии глюкокортикоидами.



Для пациенток с умеренными и выраженными дисбиотическими нарушениями в составе биоценоза характерно присутствие большого количества групп микроорганизмов (рис.14.). В формировании умеренных дисбиотических нарушений у пациенток, получавших глюкокортикоиды, принимают участие 8 групп микроорганизмов (сем. Enterobacteriaceae, Gardnerellavaginalis, Eubacterium spp., Megasphaera spp., Clostridium spp., Mobiluncus spp., Peptostreptococcus spp. и Atopobium vaginae), наиболее часто обнаруживали представителей сем. Enterobacteriaceae (66,6% случаев), Gardnerellavaginalis (66,6%) и Eubacterium spp. (83,3% случаев). В группе сравнения в формировании умеренных нарушений биоценоза принимали участие факультативно-анаэробные микроорганизмы Streptococcus spp. (50% случаев), Eubacterium spp. (50%) и Clostridium spp. (50% случаев). В группе женщин, получающих терапию глюкокортикоидами, в формировании выраженных дисбиотических нарушений в абсолютном большинстве случаев принимали участие микроорганизмы следующих групп: Gardnerellavaginalis (90% случаев), Eubacterium spp. (90%), Megasphaera spp. (50%) и представители сем. Enterobacteriaceae (50% случаев). Микроорганизмы группы Peptostreptococcus spp. обнаруживали в 40% случаев у пациенток с выраженными дисбиотическими нарушениями. Обращает на себя

внимание тот факт, что при наличии выраженных дисбиотических нарушений, в которых облигатно-анаэробные микроорганизмы играют ведущую роль, ни в одном случае из 10 не был выявлен маркер длительных дисбиотических нарушений *Atopobiumvaginae*. В случае с умеренными дисбиозами только у 1 пациентки из 6 был обнаружен этот микроорганизм.

Рис.14. Частота выявления условно-патогенных микроорганизмов в диагностически значимых количествах (более 1% от всех микроорганизмов) у пациенток с умеренными и выраженными дисбиотическими нарушениями биоценоза влагалища в зависимости от терапии глюкокортикоидами.



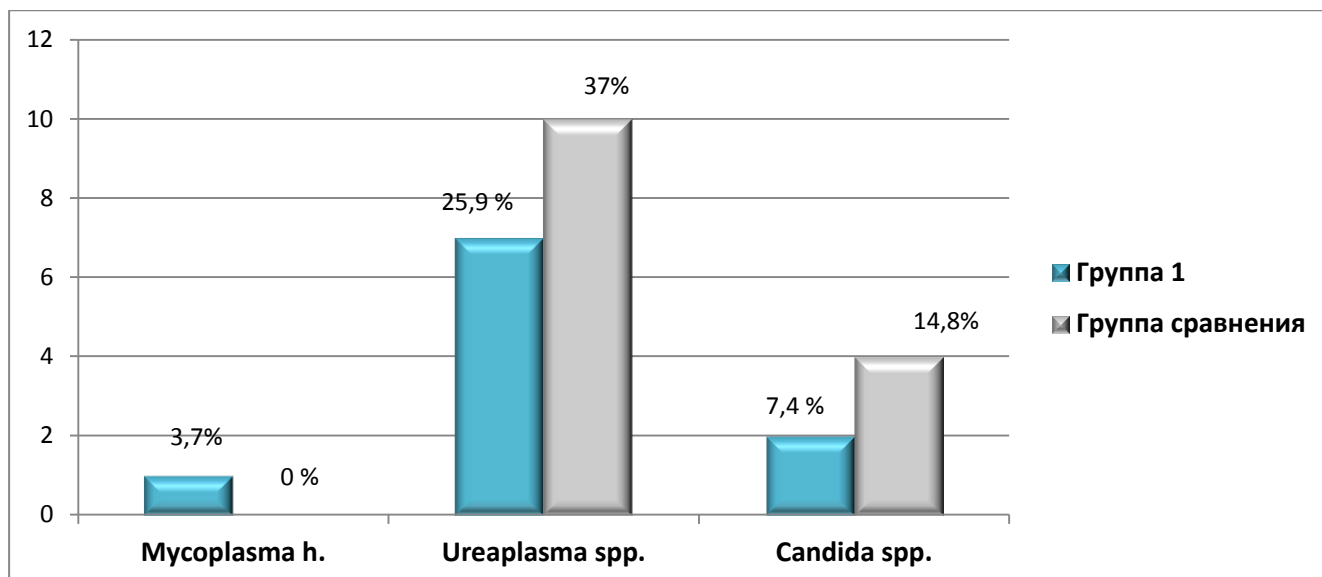
У пациенток с выявленным условным нормоценозом (сохранная лактофлора и присутствие в биоценозе молликутов и дрожжеподобных грибов в количествах более 10^4 ГЭ) ни в одной из групп не обнаружили других микроорганизмов в диагностически значимых количествах. Для группы сравнения это вполне объяснимо тем, что на фоне сохранной нормофлоры у здоровых женщин репродуктивного возраста редко присутствуют какие-либо другие микроорганизмы, а для группы женщин, получавших терапию глюкокортикоидами это может быть связано с тем, что из 27 обследованных пациенток только у 2 обнаружили условный нормоценоз.

Результаты настоящего исследования позволяют предположить, что состояние абсолютного нормоценоза у пациенток, получавших терапию глюкокортикоидами, является не очень устойчивым вариантом биоценоза за счет присутствия условно-патогенных факультативно- и облигатно-анаэробных микроорганизмов в диагностически значимых количествах. Эти микроорганизмы при увеличении их доли в биоценозе вызывают развитие дисбиотических нарушений. Такая ситуация может складываться за счет влияния гормональной терапии на нормальное функционирование эпителиальных клеток влагалища и ослабление биопленки, которую составляют лактобактерии.

Молликуты и дрожжеподобные грибы в клинически значимых количествах были обнаружены у 9 (33,3%) пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами и у 14 (51,8%) женщин из группы сравнения, при этом в группе сравнения у обеих пациенток с умеренными дисбиозами обнаруживали либо дрожжеподобные грибы, либо микроорганизмы рода *Ureaplasma*.

При анализе частоты встречаемости генитальных микоплазм и дрожжеподобных грибов рода *Candida* обнаружено, что частота выявления *Mycoplasma hominis* в количестве более 10^4 ГЭ не различалась между группами (рис.15) и составила 3,7% в группе женщин с терапией глюкокортикоидами и 0 % в контрольной группе. *Ureaplasma* spp. в количествах более 10^4 ГЭ в контрольной группе обнаруживали приблизительно в полтора раза чаще, чем в исследуемой группе (37% и 25,9%, соответственно).

Рис. 15. Частота выявления генитальных микоплазм и грибов рода *Candida* у женщин репродуктивного возраста в зависимости от приема глюкокортикоидной терапии.



Частота выявления дрожжеподобных грибов у пациенток, получавших терапию глюкокортикоидами, была почти в 2 раза ниже, чем в контрольной группе (7,4% и 14,8%, соответственно).

В единственном случае для двух групп пациентов наблюдали микст-инфицирование *Ureaplasma*spp.+*Candida*spp. для пациентки из группы женщин с терапией глюкокортикоидами на фоне умеренного снижения нормальной микрофлоры влагалища.

Учитывая, что большая часть выявленных дисбиозов влагалища протекала бессимптомно, без явных признаков воспалительной реакции при микроскопическом обследовании, следует придерживаться более активной тактики выявления и лечения дисбиотических нарушений биоценоза влагалища у пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами.

Таким образом, терапия глюкокортикоидами должна рассматриваться клиницистами как изолированный фактор формирования бессимптомных дисбиотических нарушений микробиоценоза влагалища.

Важно отметить, что качественный и количественный состав биоценоза влагалища у пациенток репродуктивного возраста, получающих терапию глюкокортикоидами, имеет значительные отличия от такового у женщин, репродуктивного возраста вне терапии. Биоценоз влагалища пациенток с

терапией глюкокортикоидами характеризует высокая частота дисбиотических нарушений при отсутствии клинических признаков патологии влагалища.

Нами установлено, что при исследовании микрофлоры влагалища высокоточными методами - ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени у 9 (33,3%) пациенток диагностирован абсолютный нормоценоз, у 2 (7,4%) пациенток - условный нормоценоз (на фоне сохранной лактофлоры обнаруживали микроорганизмы рода *Ureaplasma*), умеренные дисбиотические нарушения выявляли у 6 (22%) женщин, выраженные дисбиотические нарушения в 10 (38%) случаях.

В группе пациенток с терапией глюкокортикоидами отмечено снижение общей обсемененности влагалища и значительное снижение нормальной микрофлоры влагалища. Отмечена значительная роль микроорганизмов - представителей семейства *Enterobacteriaceae* в формировании дисбиотических нарушений различной степени тяжести у пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами. Также у этих пациенток отмечали значительную частоту встречаемости облигатно-анаэробных микроорганизмов, таких как *Gardnerellavaginalis*, *Eubacterium*spp., *Sneathiaspp.*, *Megasphaeraspp.*, *Clostridium*spp., *Peptostreptococcus*spp. на фоне абсолютного отсутствия маркера длительных дисбиотических нарушений анаэробного характера - *Atopobiumvaginae*.

Состояние абсолютного нормоценоза у пациенток, получавших терапию глюкокортикоидами, является не очень устойчивым вариантом биоценоза за счет присутствия условно-патогенных факультативно- и облигатно-анаэробных микроорганизмов в диагностически значимых количествах.

В связи с преобладанием в составе биоценоза облигатно-анаэробных микроорганизмов и отсутствием жалоб, углубленный лабораторный анализ биоценоза влагалища необходимо проводить в качестве скрининга всем пациенткам, получающим терапию глюкокортикоидами.

Для снижения риска возникновения инфекционных заболеваний урогенитального тракта, а также профилактики развития дисбиозов влагалища,

терапия глюкокортикоидами должна назначаться в сочетании с местным применением пробиотиков.

3.2. Влияние глюкокортикоидной терапии на биоценоз влагалища у пациенток в постменопаузе.

На момент обследования 14 пациенток из группы «**ПАТОЛОГИЯ – ПОСТМЕНОПАУЗА**» принимали терапию глюкокортикоидами в период от 1 года до 16 лет. Средний возраст в группе женщин, получавших терапию глюкокортикоидами составил $56,4 \pm 7,4$ года.

Причинами назначения глюкокортикоидной терапии явились системная красная волчанка, антифосфолипидный синдром, системная склеродермия, геморрагический васкулит, эозинофильный гранулематоз, ревматоидный артрит, гломерулонефрит.

При тщательном сборе анамнеза ни одна из обследованных женщин не предъявляли жалоб со стороны органов репродуктивной системы. Тем не менее, прицельный опрос выявил слабо выраженную симптоматику у 10 (71,4%) женщин. Зуд и жжение в области наружных половых органов отметили 6 (42,8%) пациенток, диспареунию 6 (42,8%), выделения из половых путей – 4 (28,5%). Не предъявляли никаких жалоб 4 (28,5%) женщины. В группе сравнения жалоб на зуд, жжение и диспареунию не было ни у одной женщины, на выделение из половых путей жаловалась 1 пациентка.

При микроскопическом исследовании отделяемого влагалища, у 4 (28,5%) пациенток обнаружили кокковую флору, у 7 (50%) женщин - смешанную, у 3 (21,5%) пациенток – палочковую. У 10 (71,4%) пациенток количество лейкоцитов варьировало в пределах от 5 до 10 в поле зрения, у остальных 4 (28,6%) женщин количество лейкоцитов не превышало 5 в поле зрения.

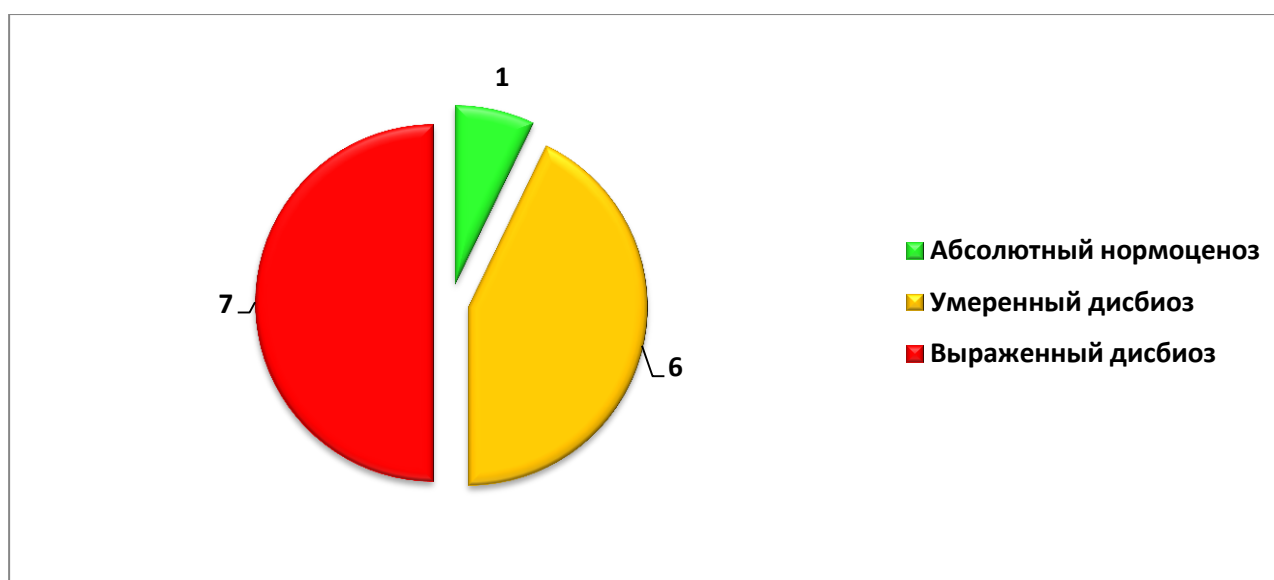
В группе сравнения только у 2 пациенток выявляли смешанную флору по результатам микроскопического исследования отделяемого влагалища, у 5 женщин была обнаружена кокковая флора, а у 7 женщин палочковая (различия

между группами составили $p=0,0039$). В группе сравнения при оценке количества лейкоцитов у абсолютного большинства женщин (11 пациенток, 78,5 %) определяли до 5 лейкоцитов в поле зрения, у 3 (21,5%) женщин количество лейкоцитов варьировало в пределах от 5 до 10 в поле зрения, и ни у одной количество лейкоцитов не превысило 10 в поле зрения (различия между группами составили $p=0,0006$).

На рис. 16 представлена структура биоценозов влагалища у пациенток, принимающих глюкокортикоиды, по данным ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени.

По данным теста Фемофлор только у 1 пациентки нормальная микрофлора влагалища осталась сохранной и составляла не менее 80% от общей бактериальной массы. У остальных женщин выявляли умеренные и выраженные дисбиотические нарушения. Выраженные дисбиотические нарушения обнаружили в половине всех случаев (у 7 пациенток), умеренные – в 6 (44,8 %).

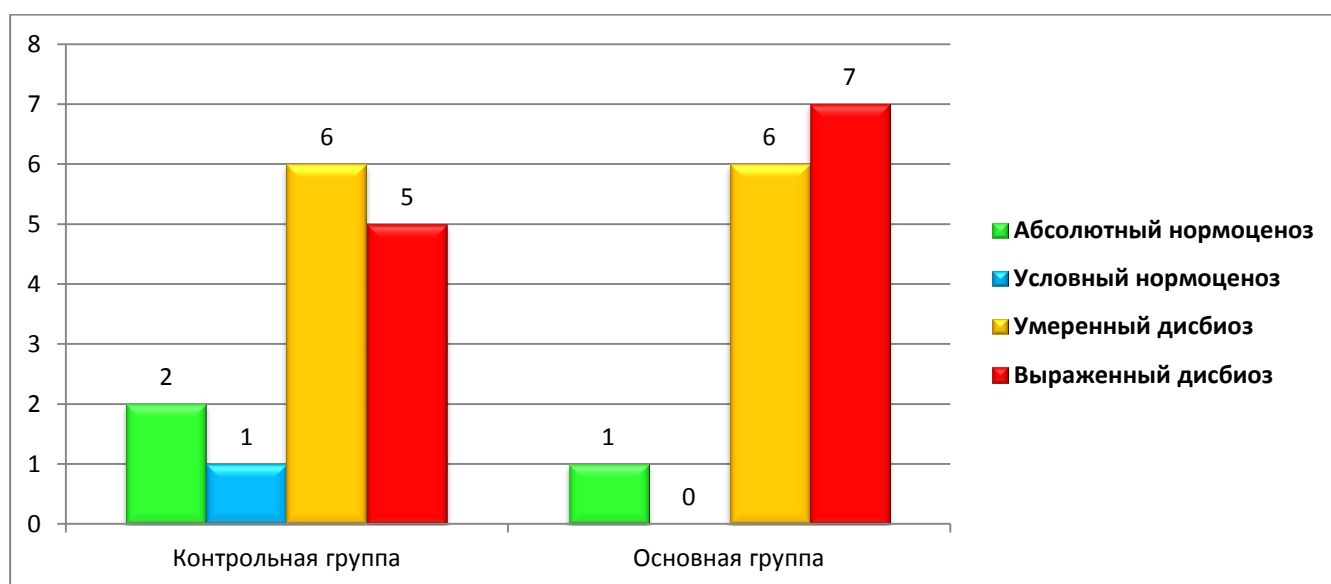
Рис. 16. Структура биоценозов влагалища пациенток, принимающих глюкокортикоиды (n=14).



Сравнили структуру биоценоза влагалища по результатам ПЦР-РВ у женщин с терапией глюкокортикоидами с контрольной группой – женщинами, подобранными по принципу случай-контроль (рис.17).

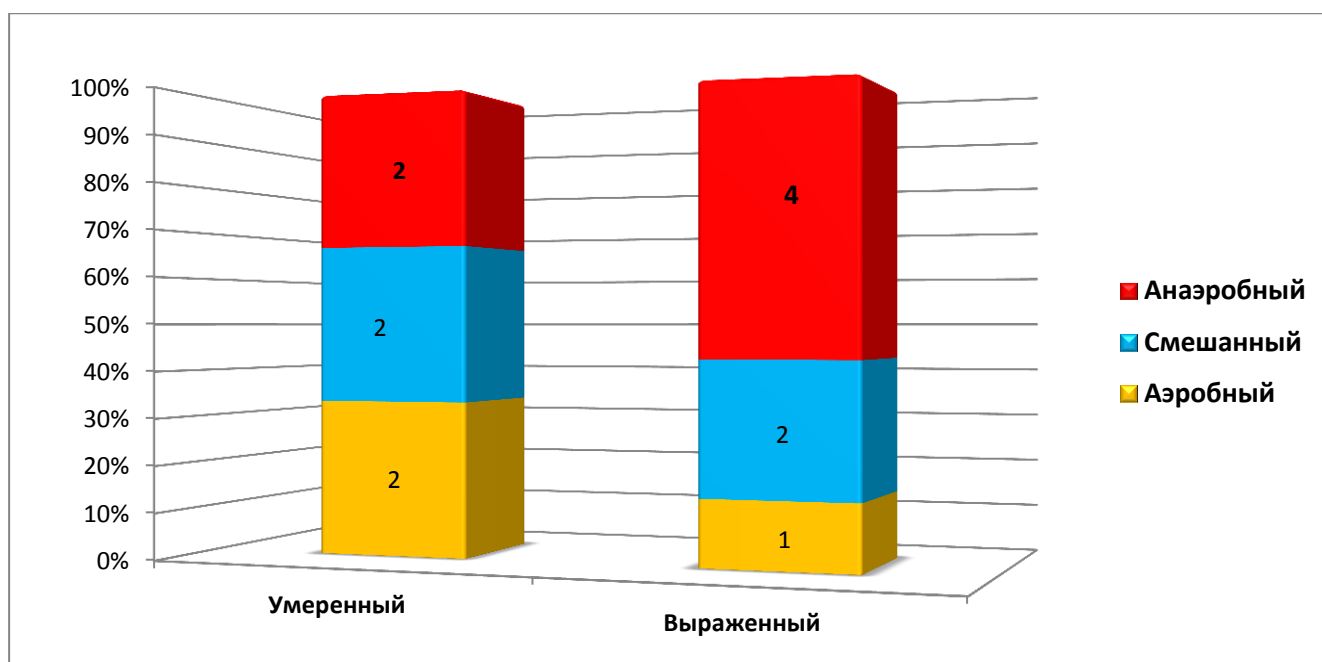
Структуры биоценозов в группах женщин были очень похожи. В обеих группах преобладали биоценозы со сниженным количеством лактобактерий, абсолютные и условные нормоценозы практически не выявлялись. Это может быть связано с тем, что для женщин в постменопаузе в норме характерно снижение количества нормальной микрофлоры и увеличение в структуре биоценоза количества анаэробных микроорганизмов (1).

Рис.17. Структура биоценоза влагалища у женщин в постменопаузе в зависимости от приема глюкокортикоидных препаратов.



В формировании умеренных и выраженных дисбиотических нарушений (рис.18) у женщин с терапией глюкокортикоидами, в 10 случаев из 14 принимали участие облигатно-анаэробные микроорганизмы.

Рис. 18. Структура умеренного и выраженного дисбиоза у женщин в постменопаузе, получающих терапию глюкокортикоидами.

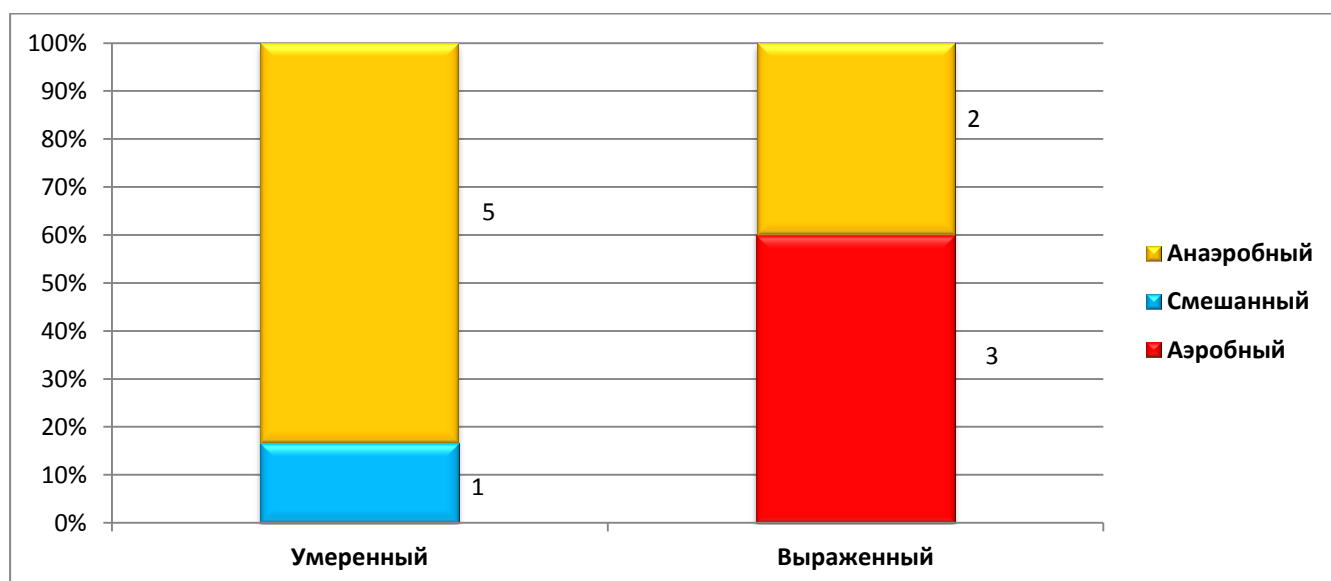


В 4 случаях выявляли смешанные дисбиотические нарушения, когда в составе биоценоза факультативно-анаэробные микроорганизмы присутствовали в количестве не менее 10% от всех выделенных микроорганизмов. В структуре выраженных дисбиозов соотношение между факультативно- и облигатно-анаэробными микроорганизмами продолжило сохраняться, по-прежнему лидирующую роль в формировании дисбиотических нарушений играли облигатные анаэробы (42,8% случаев – только облигатно-анаэробные микроорганизмы, 28,5% - в составе смешанных дисбиозов), и у 3 пациенток выявили умеренные и выраженные дисбиотические нарушения, ассоциированные с аэробными микроорганизмами. Таким образом, ведущую роль в формировании как умеренных, так и выраженных дисбиотических нарушений играют облигатно-анаэробные микроорганизмы.

В группе сравнения (рис.19) в формировании умеренных дисбиотических нарушений в 6 случаях из 6 принимали участие облигатно-анаэробные микроорганизмы (у 5 женщин – изолированно, у 1 – в составе смешанного дисбиоза), что интересно, в структуре биоценозов, где лактофлора не сохранилась, преобладали факультативно-анаэробные микроорганизмы (в 3 случаях из 5), в 2 случаях наблюдали доминирование облигатных анаэробов, а

смешанные варианты вообще не встречались. Статистически значимых различий между группами по этому параметру нами обнаружено не было.

Рис. 19. Структура биоценоза влагалища у женщин в постменопаузе.



Анализ количественного состава биоценозов у женщин, получавших терапию глюкокортикоидами показал снижение количества бактерий в биоценозе (примерно в 4 раза относительно контрольной группы) (табл.19). На фоне снижения бактериальной массы в группе женщин в постменопаузе, принимавших терапию глюкокортикоидами, выявляли снижение количества лактобактерий по сравнению с контрольной группой более чем в 10 раз.

Таблица 29. Количественный состав биоценоза влагалища у женщин в постменопаузе на фоне терапии глюкокортикоидами (n=14).

Показатель	Группа женщин с терапией глюкокортикоидами (n=14)			Контрольная группа(n=14)		
	Мед иана , Lg ГЭ	25 – 75 процен тиль, Lg ГЭ	5 – 95 процен тиль, Lg ГЭ	Мед иана , Lg ГЭ	25 – 75 процен тиль, Lg ГЭ	5 – 95 процен тиль, Lg ГЭ
Общая бактериальная	6,1	5,3–6,8	4,5-7,4	6,8	6,4–7,2	5,2-8,0

macca						
Lactobacillus spp.	4,7	4,0–5,6	0,0–7,0	5,8	5,4–6,3	2,6–7,9
сем. Enterobacteriaceae	3,6	3,1–4,3	0,0–5,4	3,2	2,5–3,3	2,0–6,7
Streptococcus spp.	4,0	0,0–4,9	0,0–5,4	3,3	1,3–4,0	0,0–4,7
Staphylococcus spp.	1,2*	1,0–1,7	0,7–3,5	2,9	2,1–3,0	1,5–4,3
Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia+Porphyromonas spp.	5,1	3,9–6,2	0,0–6,9	5,0	3,8–5,3	1,6–7,1
Eubacterium spp.	4,7	3,3–5,8	0,0–6,5	4,7	3,9–5,4	0,7–5,6
Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+ Fusobacterium spp.	1,3	0,2–3,3	0,0–5,8	2,5	1,3–3,4	0,0–5,8
Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.	4,2	1,0–5,1	0,0–6,2	3,2	2,0–5,5	0,0–5,9
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	4,2	3,6–4,6	0,0–5,2	3,1	2,1–4,2	1,6–4,5
Mobiluncus spp.+ Corynebacterium spp.	3,9	0,8–4,3	0,0–4,8	3,9	2,6–4,3	0,0–4,5
Peptostreptococcus spp.	3,5	0,0–4,6	0,0–5,4	4,1	2,3–4,5	0,0–5,7
Atopobium vaginae	2,1	1,2–6,1	0,1–6,8	1,8	0,0–4,4	0,0–5,9
Mycoplasma hominis	0,0	0,0–0,0	0,0–1,9	0,0	0,0–0,0	0,0–0,0
Ureaplasma (urealyticum+parvum)	0,0	0,0–0,0	0,0–4,4	0,0	0,0–2,0	0,0–3,4
Candida spp.	1,6**	1,1–2,1	0,7–2,9	2,7	2,4–2,8	1,9–3,8

* p=0,0024

* p=0,0016

У пациенток в постменопаузе с терапией глюкокортикоидами выявляли микроорганизмы рода *Staphylococcus* в статистически значимо меньших количествах, чем в контрольной группе. Также у этих женщин были обнаружены

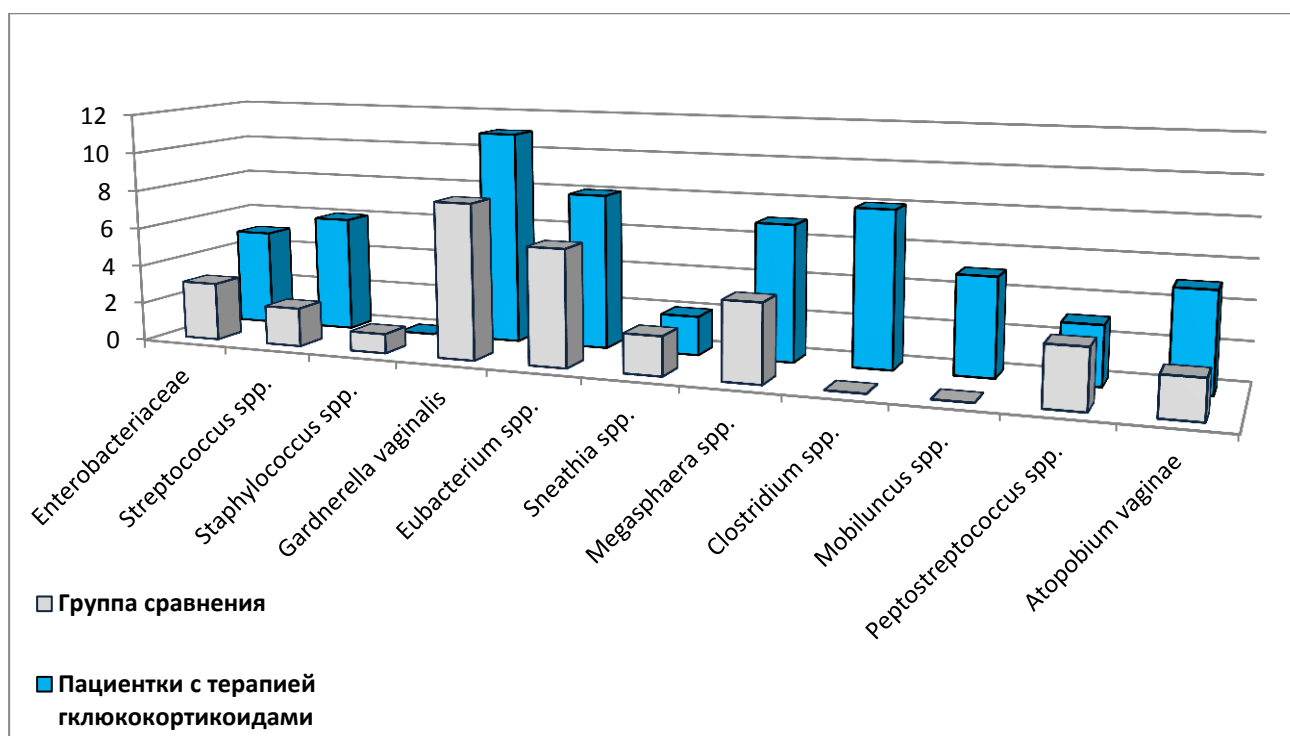
повышенные количества облигатно-анаэробных микроорганизмов из групп *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.* и *Lachnobacterium spp./Clostridium spp.*

По остальным исследованным микроорганизмам в биоценозах нами статистически значимых различий между группами обнаружено не было.

Для определения роли отдельных представителей условно-патогенной микрофлоры в формировании различных вариантов биоценоза влагалища оценили частоту их выявления в диагностически значимых количествах - в биоценозе доля микроорганизма составляла более 1% от суммы всех выделенных микроорганизмов (рис.20). Различия между группами по количеству участников биоценоза были статистически значимыми ($p < 0,05$).

Обращает на себя внимание тот факт, что в структуре микробного сообщества женщин в постменопаузе облигатно-анаэробные микроорганизмы играют значительную роль. Основными микроорганизмами, как по частоте встречаемости, так и по доле в биоценозе и в группе сравнения и в исследованной группе были *Gardnerella vaginalis* и *Eubacterium spp.* У здоровых женщин в постменопаузе представители семейства *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Sneathia spp.*, *Megasphaera spp.*, *Peptostreptococcus spp.* и *Atopobium vaginae* отмечали реже, чем в группе женщин, получавших терапию глюкокортикоидами, а *Lachnobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Mobiluncus spp.*, *Corynebacterium spp.* у женщин, не получавших терапию глюкокортикоидами, не отмечали вообще. В группе сравнения у 1 пациентки были обнаружены микроорганизмы группы *Staphylococcus spp.*, в то время, как в исследованной группе ни у одной из женщин эти микроорганизмы диагностированы не были.

Рис.20. Частота выявления условно-патогенных микроорганизмов в диагностически значимых количествах (более 1% от всех микроорганизмов) у пациенток в постменопаузе, получающих терапию глюкокортикоидами, и в группе сравнения.



Таким образом, сообщества микроорганизмов влагалища пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами представлены большим числом групп облигатно-анаэробных микроорганизмов, в количествах, превышающих 1% от общей бактериальной массы.

Молликуты и дрожжеподобные грибы в клинически значимых количествах были обнаружены у 3 пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами и у 2 женщин из группы сравнения, при этом в группе сравнения у пациенток обнаруживали либо дрожжеподобные грибы (на фоне сохранной лактофлоры), либо микроорганизмы рода *Ureaplasma* (в случае умеренного дисбиотического расстройства), в исследованной группе дрожжеподобные грибы не встречались, в 2 случаях выявляли *Ureaplasma spp.*, а в одном – *Mycoplasma spp.*, все молликуты были представлены в сообществах с практически отсутствующими лактобактериями.

При анализе частоты встречаемости генитальных микоплазм и дрожжеподобных грибов рода *Candida* обнаружено, что частота выявления этих микроорганизмов в количестве более 10^4 ГЭ не различалась между исследованными группами.

В единственном случае для двух групп пациентов наблюдали микст-инфицирование *Ureaplasma spp.*+ *Mycoplasma spp.* для пациентки из основной группы на фоне значительного преобладания облигатно-анаэробной флоры влагалища (выраженного анаэробного дисбиоза).

Таким образом, качественный и количественный состав биоценоза влагалища у пациенток в постменопаузе, получающих терапию глюкокортикоидами, имеет значительные отличия от такового у женщин, вне терапии. Биоценоз влагалища пациенток с терапией глюкокортикоидами характеризует снижение общего количества бактерий, значительное снижение нормофлоры (более чем в 10 раз относительно контрольной группы).

При исследовании микрофлоры влагалища высокоточными методами - ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени только у 1 пациентки диагностировали абсолютный нормоценоз, выраженные дисбиотические нарушения обнаруживали у 7 (50%) пациенток, умеренные – у 6 (44,8 %).

Отмечена значительная роль условно-патогенных облигатно-анаэробных микроорганизмов представителей групп *Gardnerellavaginalis*, *Eubacteriumspp.* *Sneathiaspp.*, *Megasphaeraspp.*, *Clostridium spp.*, *Peptostreptococcus spp.* и *Atopobiumvaginae* в формировании дисбиотических нарушений различной степени тяжести у пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами. Сообщества микроорганизмов влагалища пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами, представлены одновременно большим числом групп облигатно-анаэробных микроорганизмов.

Частота встречаемости генитальных микоплазм и дрожжеподобных грибов рода *Candida* в количестве более 10^4 ГЭ в группе пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами, была такой же, как и в группе сравнения и составила 14-21%.

Пациентки в постменопаузе, получающие терапию препаратами глюкокортикоидного ряда, являются группой высокого риска восходящей инфекции мочевыделительной системы.

С целью стабилизации течения основного заболевания данная группа больных нуждается в тщательном исследовании влагалищного биотопа современными методами лабораторной диагностики выявления условно-патогенных облигатно-анаэробных микроорганизмов.

Учитывая изменение трофики слизистой влагалища, обусловленную возрастом и приемом препаратов глюкокортикоидного ряда, пациенткам данной группы необходимо с профилактической и лечебной целью местно назначать эстрогены и пробиотики.

3.3. Микробный пейзаж мочи пациенток, находящихся на терапии глюкокортикоидами

Изучали микробный пейзаж мочи пациенток, принимающих терапию глюкокортикоидами (табл. 20). Качественный и количественный состав микробного пейзажа различался в зависимости от сохранности менструальной функции. Так, при сравнимой выявленной общей бактериальной массе (около 100 000 бактериальных клеток на образец) у женщин репродуктивного возраста и у пациенток в постменопаузе, количество лактобактерий в моче по данным ПЦР-РВ у женщин с сохранной менструальной функцией было почти на 2 порядка (в 100 раз больше) больше, чем у пациенток в постменопаузе ($10^{5,2}$ и $10^{3,6}$ ГЭ/образец, соответственно).

Таблица 20. Количественный состав микробного состава мочи у женщин репродуктивного возраста (n=27) и в постменопаузе (n=14), принимающих терапию глюкокортикоидами

Показатель	<i>Пациентки репродуктивного возраста (n=27)</i>	<i>Пациентки в постменопаузе(n=14)</i>
------------	--	--

	Мед иана , Lg ГЭ	25 – 75 процен тиль, Lg ГЭ	5 – 95 процен тиль, Lg ГЭ	Мед иана , Lg ГЭ	25 – 75 процен тиль, Lg ГЭ	5 – 95 процен тиль, Lg ГЭ
Общая бактериальная масса	5,3	5,25– 5,25	3,3-6,7	5,4	5,4–5,4	3,9-8,7
Lactobacillus spp.	5,2	5,05– 5,05	0,8-6,4	3,6	3,55– 3,55	1,4-6,2
сем. Enterobacteriaceae	3,0	3,0 -3,0	0,0-4,5	3,2	3,15– 3,15	0,0-8,9
Streptococcus spp.	0,0	0,0–0,0	0,0-3,5	0,0	0,0–0,0	0,0-4,3
Staphylococcus spp.	0,0	0,0–0,0	0,0-3,2	0,0	0,0–0,0	0,0-4,1
Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia+Porphyromonas spp.	3,9*	3,85– 3,85	0,0-6,1	4,6	4,45– 4,45	2,6-7,1
Eubacterium spp.	3,4	3,4–3,4	0,0-5,3	4,4	4,4–4,4	0,0-6,4
Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+ Fusobacterium spp.	0,0	0,0–0,0	0,0-5,2	0,0	0,0–0,0	0,0-6,3
Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.	3,0*	2,0 -3,0	0,0-4,9	4,1	3,85- 3,85	0,7-6,6
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	0,0	0,0–0,0	0,0-4,1	3,1	3,05– 3,05	0,0-4,7
Mobiluncus spp.+ Corynebacterium spp.	0,0*	0,0–0,0	0,0-4,2	3,6	3,3–3,3	0,0-5,4
Peptostreptococcus spp.	0,0*	0,0–0,0	0,0-4,8	4,0	3,95– 3,45	0,0-5,2
Atopobium vaginae	0,0	0,0–0,0	0,0-4,3	0,0	0,0–0,0	0,0-6,7
Mycoplasma hominis	0,0	0,0–0,0	0,0-1,5	0,0	0,0–0,0	0,0-2,4

Ureaplasma (urealyticum+parvum)	0,0	0,0–0,0	0,0-4,3	0,0	0,0–0,0	0,0-4,9
Candidaspp.	0,0*	0,0–0,0	0,0-3,3	0,0	0,0–0,0	0,0-0,0

* (p<0,05)

Вполне ожидаемо, что в моче обследованных женщин не обнаруживали факультативно-анаэробных микроорганизмов в значительных количествах ни в той, ни в другой группе. Единственная группа микроорганизмов, которая присутствовала в незначительных количествах – это представители семейства *Enterobacteriaceae*. Медиана значений их количества была равна $10^{3,0}$ и $10^{3,2}$ для женщин репродуктивного возраста и женщин в постменопаузе, соответственно. Разброс от 5 до 95 перцентиля для этой группы микроорганизмов составил у пациенток репродуктивного возраста от 10 до $10^{4,5}$, а для пациенток в постменопаузе от 10 до $10^{8,9}$, что для значений 95 перцентиля почти в 100 000 раз больше.

Что касается облигатных анаэробов, то микробный пейзаж мочи женщин в постменопаузе отличался значительным образом от такового у женщин репродуктивного возраста за счет присутствия следующих групп микроорганизмов: *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia*+*Porphyromonas spp.*, *Megasphaera spp.*+*Veillonella spp.*+*Dialister spp.*, *Mobiluncus spp.*+*Corynebacterium spp.* и *Peptostreptococcus spp.* Медиана количества перечисленных групп микроорганизмов в моче у женщин в постменопаузе достигало $10^{4,6}$ ГЭ/ образец, что было в десятки раз выше, чем в моче у женщин репродуктивного возраста. Абсолютные значения для этих МО достигали у пациенток в менопаузе $10^{7,6}$ ГЭ/ образец, тогда как у отдельных пациенток репродуктивного возраста не превышали $10^{6,7}$ ГЭ/ образец, что в почти в десять раз меньше. МО такой группы как *Sneathia spp.*+*Leptotrichia spp.*+*Fusobacterium spp.*, а также *Atopobium vaginae* в большинстве случаев ни в группе женщин репродуктивного возраста ни у пациенток в постменопаузе не встречались в сколько-нибудь значимых количествах.

Медианы значений для группы молликутов: *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* были одинаковыми для обеих групп пациенток, 25-75 и 5-95 процентиля также отличались незначительно. Статистически значимых различий по количествам детектированных молликутов между группами женщин репродуктивного возраста и женщин в постменопаузе нами обнаружено не было.

Дрожжеподобные грибы обнаруживали только у женщин репродуктивного возраста, в количествах, близких к порогу чувствительности теста (не более $10^{4,2}$ ГЭ/ образец).

Оценивали частоту встречаемости различных групп микроорганизмов в моче пациенток репродуктивного возраста и в постменопаузе (табл. 21). С помощью метода полимеразной цепной реакции в моче всех пациенток были обнаружены те или иные микроорганизмы. Лактобактерии присутствовали в моче как у женщин репродуктивного возраста, так и у женщин в постменопаузе в более чем 90% случаев. Частота встречаемости факультативно-анаэробных микроорганизмов у женщин репродуктивного возраста колебалась в пределах от 11,1 до 55,6% в зависимости от исследуемой группы микроорганизмов, у пациенток в постменопаузе частота встречаемости факультативно-анаэробных микроорганизмов варьировала от 30,8 до 69% случаев. У пациенток репродуктивного возраста реже всего выявляли *Staphylococcus* spp. (в трех случаях из 27), а у пациенток в постменопаузе реже всех отмечали *Streptococcus* spp. (4 случая из 13). Наиболее часто и в группе женщин репродуктивно возраста и у пациенток в постменопаузе обнаруживали представителей семейства *Enterobacteriaceae* (55,6 и 69,2%, соответственно). По частоте обнаружения нормофлоры (лактобактерий) и факультативно-анаэробных МО статистически значимых различий между группами женщин репродуктивного возраста и женщин в постменопаузе нами обнаружено не было.

Частота встречаемости облигатно-анаэробных микроорганизмов у женщин репродуктивного возраста составила в зависимости от группы МО от 18,5 до 74,1 %; у женщин в постменопаузе облигатно-анаэробные микроорганизмы

детектировали с частотой от 38,5 до 100%. В моче женщин репродуктивного возраста наиболее часто обнаруживали микроорганизмы 2 групп облигатно-анаэробных микроорганизмов: *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia*+*Porphyromonas spp.* и *Eubacterium spp.* (у 20 и 19 пациенток, соответственно 74,1 и 70,4 %). Средними по частоте встречаемости были следующие группы микроорганизмов: *Megasphaera spp.*+*Veillonella spp.*+*Dialister spp.* (51,9% случаев), *Peptostreptococcus spp.* (44,4%), *Lachnobacterium spp.* + *Clostridium spp.* (40,7%), *Mobiluncus spp.*+ *Corynebacterium spp.* (33,3%). Наиболее редко детектировали *Atopobium vaginae* (7 пациенток, 25,9% случаев) и микрорганйзмы группы *Sneathia spp.*+*Leptotrichia spp.*+ *Fusobacterium spp.* (18,5%, 5 пациенток).

Таблица 21. Частота встречаемости различных групп микроорганизмов у пациенток с терапией глюкокортикоидами:

Показатель	Пациентки репродуктивного возраста (n=27)		Пациентки в постменопаузе(n=14)	
	Число наблюдений	% случаев	Число наблюдений	% случаев
Общая бактериальная масса	27	100	14	100
<i>Lactobacillus spp.</i>	25	92,6	12	92,3
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	15	55,6	9	69,2
<i>Streptococcus spp.</i>	10	37,0	4	30,8
<i>Staphylococcus spp.</i>	3	11,1	5	38,5
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i>+<i>Porphyromonas spp.</i>*	20	74,1	13	100
<i>Eubacterium spp.</i>	19	70,4	10	76,9

Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+ Fusobacterium spp.	5	18,5	5	38,5
Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.*	14	51,9	13	100
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	11	40,7	8	61,5
Mobiluncus spp.+ Corynebacterium spp.*	9	33,3	9	59,2
Peptostreptococcus spp.*	12	44,4	11	84,6
Atopobium vaginae	7	25,9	5	38,5
Mycoplasma hominis	2	7,4	1	7,7
Ureaplasma (urealyticum+parvum)	10	37,0	4	30,8
Candida spp.*	4	14,8	0	0

* (p<0,05)

У пациенток в постменопаузе наиболее часто детектировали следующие группы облигатно-патогенных МО: *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia*+*Porphyromonas spp.* (100% случаев), *Megasphaera spp.*+*Veillonella spp.*+*Dialister spp.* (100%), *Peptostreptococcus spp.* (84,6%, 11 женщин из 13) и *Eubacterium spp.* (76,9%). Средними по частоте встречаемости были следующие группы микроорганизмов: *Lachnobacterium spp.* + *Clostridium spp.* (61,5%), *Mobiluncus spp.*+ *Corynebacterium spp.* (59,2%), а наиболее редкими находками из всех облигатно-анаэробных микроорганизмов, также как и у женщин репродуктивного возраста были *Atopobium vaginae* и группа *Sneathia spp.*+*Leptotrichia spp.*+ *Fusobacterium spp.* (по 38,5% в каждой группе). У пациенток в постменопаузе статистически значимо чаще встречались следующие группы облигатно-анаэробных микроорганизмов: *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia*+*Porphyromonas spp.*(p=0,04), *Megasphaera spp.*+*Veillonella*

spp.+*Dialister spp.* ($p=0,023$), *Mobiluncus spp.*+*Corynebacterium spp.*($p=0,047$) и *Peptostreptococcus spp.*($p=0,045$).

Mycoplasma hominis и *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* обнаруживали примерно с одинаковой частотой в обеих группах пациенток. *Mycoplasma hominis* встречалась у 2 женщин репродуктивного возраста (7,4% случаев, в единственном случае – в количестве более 10^4 ГЭ/образец) и у 1 пациентки в постменопаузе (7,7%, в количестве 10^6 ГЭ/образец), *Ureaplasma spp.* была детектирована в моче у 10 (37%) женщин репродуктивного возраста, причем только у 3 пациенток в клинически значимых количествах – более 10^4 ГЭ/образец и у 4 (30,8%) пациенток в постменопаузе (только у 2 в количествах более 10^4 ГЭ/образец). Статистически значимых различий по этим показателям между группами женщин репродуктивного возраста и женщин в постменопаузе нами обнаружено не было.

Дрожжеподобные грибы статистически значимо чаще ($p=0,045$) обнаруживали в моче у пациенток репродуктивного возраста. *Candida spp.* в количествах более 10^3 ГЭ/образец, была детектирована у 4 женщин, в то время, как ни у одной пациентки в постменопаузе их не выявляли (рис.21).

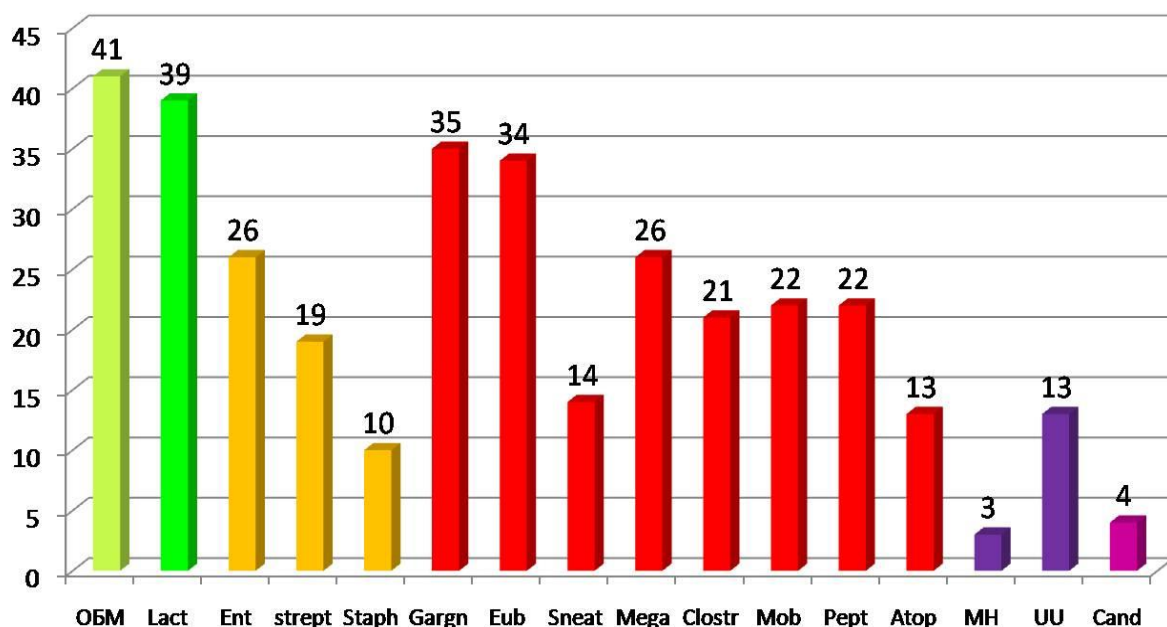


Рис 21. Микробный пейзаж мочи пациенток, принимающих глюкокортикоидную терапию.

Таким образом, микробный пейзаж мочи пациенток, принимающих терапию глюкокортикоидами характеризуется высокой бактериальной массой (до $10^{8,8}$ ГЭ/образец), присутствием лактобактерий (более чем в 90% случаев), факультативно- и облигатно-анаэробных микроорганизмов, молликутов и в случае пациенток репродуктивного возраста – дрожжеподобных грибов.

Микробный пейзаж пациенток репродуктивного возраста отличается от такового у пациенток в постменопаузе по следующим показателям: снижению количеству лактобактерий, повышенным количествам облигатно-анаэробных микроорганизмов, присутствием в моче разных групп облигатно-анаэробных МО. Так, для женщин репродуктивного возраста медиана количества групп МО, доля которых в биоценозе превысила 1%, была равна 2, а для пациенток в постменопаузе этот показатель достигал 5. (табл.22)

Таблица 22. Сравнение частоты встречаемости выявляемых организмов в различных биоматериалах, полученных от пациенток репродуктивного возраста, принимающих терапию глюкокортикоидами.

Показатель	<i>Пациентки репродуктивного возраста (n=27), моча</i>		<i>Пациентки репродуктивного возраста (n=27), влагалище</i>	
	Число наблюдений	% случаев	Число наблюдений	% случаев
Общая бактериальная масса*	27	100	27	100
<i>Lactobacillus spp.*</i>	25	92,6	26	96,3
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	15	55,6	18	66,7
<i>Streptococcus spp.</i>	10	37,0	11	40,7
<i>Staphylococcus spp.</i>	3	11,1	4	14,8
<i>Gardnerella vaginalis</i> +	20	74,1	22	81,5

Prevotella bivia+Porphyromonas spp.				
Eubacterium spp.	19	70,4	21	77,8
Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+ Fusobacterium spp.	5	18,5	7	25,9
Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.	14	51,9	15	55,5
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	11	40,7	13	48,1
Mobiluncus spp.+ Corynebacterium spp.	9	33,3	13	48,1
Peptostreptococcus spp.	12	44,4	12	44,4
Atopobium vaginae	7	25,9	6	22,2
Mycoplasma hominis	2	7,4	2	7,4
Ureaplasma (urealyticum+parvum)	10	37,0	9	33,3
Candida spp.	4	14,8	5	18,5

* (p<0,05)

В 1 случае уреоплазма была выявлена в моче у пациентки, во влагалище которой уреоплазмы не выявлено, а в 1 случае выявили облигатно-анаэробный микроорганизм *Atopobium vaginae*, который не детектировался во влагалище у пациентки. Во всех остальных случаях частота выявления микроорганизмов в моче была меньше или такой же, как и во влагалище.

Для сравнения и оценки целесообразности назначения теста было проведено исследование микробного пейзажа мочи у 10 здоровых женщин репродуктивного возраста (табл. 23).

Таблица 23. Количественный и качественный состав микробного сообщества мочи у пациенток из группы сравнения.

Показатель	<i>Пациентки репродуктивного возраста (n=10)</i>				
	Медиа на, Lg ГЭ	25 – 75 проценти ль, Lg ГЭ	5 – 95 проценти ль, Lg ГЭ	Число наблюден ий	% случаев
Общая бактериальная масса	5,05	4,60–5,45	4,03-5,75	10	100
Lactobacillus spp.	5,0	4,57–5,45	4,03-5,75	10	100
сем. Enterobacteriaceae	0,0*	0,0–0,0	0,0–2,55	1	10
Streptococcus spp.	0,0	0,0–0,0	0,0–3,0	2	20
Staphylococcus spp.	0,0	0,0–1,5	0,0–2,73	3	30
Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia+Porphyromonas spp.	0,0*	0,0–0,0	0,0–2,61	2	20
Eubacterium spp.	0,0	0,0–1,5	0,0–3,0	3	30
Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+ Fusobacterium spp.	0,0	0,0–0,0	0,0–0,0	0	0
Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.	0,0	0,0–0,0	0,0–0,0	0	0
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	0,0	0,0–0,0	0,0–0,0	0	0
Mobiluncus spp.+ Corynebacterium spp.	0,0	0,0–0,0	0,0–1,71	1	10
Peptostreptococcus spp.	0,0	0,0–0,0	0,0–0,0	0	0

Atopobium vaginae	0,0*	0,0–0,0	0,0–0,0	0	0
Mycoplasma hominis	0,0	0,0–0,0	0,0–0,0	0	0
Ureaplasma (urealyticum+parvum)	0,0	0,0–0,98	0,0–3,05	3	3
Candidaspp.	0,0	0,0–0,0	0,0–1,65	1	1

*(p<0,05)

В 100% случаев в моче у здоровых пациенток были обнаружены бактериальные клетки в количестве от $10^{3,8}$ до $10^{5,8}$ ГЭ/образец. Абсолютное большинство бактерий были представителями нормальной микрофлоры влагалища - лактобактериями. Также были отмечены в незначительных количествах, не превышающих $10^{3,0}$ ГЭ/образец, что близко к границе чувствительности метода, представители факультативно-анаэробной микрофлоры – сем. *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp.* Из облигатно-анаэробных микроорганизмов интересными были находки в образцах, полученных от здоровых женщин, микроорганизмов группы *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia*+*Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.* и *Mobiluncus spp.*+*Corynebacterium spp.*, также в незначительных количествах (до $10^{3,1}$ ГЭ/образец), что в сотни раз ниже, чем количество нормальной микрофлоры. В группе сравнения у одной пациентки выявляли *Candida spp.*, а еще у 3 - *Ureaplasma spp.*, также в количествах не более до $10^{3,1}$ ГЭ/образец, что близко к аналитической чувствительности метода.

В сравнении микробного состава мочи пациенток (n=10, по принципу «случай-контроль»), принимающих глюкокортикоидную терапию и мочи здоровых женщин (n=10) были обнаружены статистически значимые различия по следующим группам облигатно-анаэробных микроорганизмов: *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia*+*Porphyromonas spp.* (p=0,027) и *Atopobium vaginae* (p=0,032), а среди факультативно-анаэробных – сем. *Enterobacteriaceae* (p=0,038). Следует отметить, что для всей обследованной группы (n=27) во влагалищных

образцах такой закономерности обнаружено не было, т.е. статистически значимых различий мы не фиксировали.

По результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени – чувствительный метод для выявления микроорганизмов в различном биоматериале. Диагностика микробных сообществ при помощи теста Фемофлор, позволяет выявлять даже незначительные количества микроорганизмов, на пределе аналитической чувствительности метода (т.е. около $10^{2,5} - 10^3$ ГЭ/образец, т.е. сотни – тысячи клеток в образце).

Микробный состав мочи у пациенток, принимающих глюкокортикоидную терапию, по качественному составу похож на микробный состав влагалища, независимо от сохранности их менструальной функции. В нескольких наблюдениях нами выявлены микроорганизмы, которые встречаются в моче, и не были обнаружены во влагалище. Это может быть связано как с низкими количествами детектируемых микроорганизмов, так и со сменой микроорганизмом локуса обитания, а следовательно, с восходящей инфекцией. Кроме того, не следует исключать возможности контаминации между близкими локусами, такими, как уретра и влагалище.

По количеству обнаруженных микроорганизмов, образцы мочи относительно образцов, полученных из влагалища (для всех групп пациенток), содержали от сотни до тысячи раз меньше различных микроорганизмов, что позволяет сделать вывод о том, что влагалище является источником микробной экспансии в верхние отделы урогенитального тракта женщин, в частности, в уретру и мочевой пузырь.

По результатам исследований выявлены микроорганизмы, играющие максимальную роль в формировании микробного пейзажа уретры и мочевого пузыря у пациенток, принимающих терапию глюкокортикоидами: это *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia*+*Porphyromonas spp.*, *Atopobium vaginae* и представители семейства *Enterobacteriaceae*.

По количественному и качественному составу микроорганизмов моча у женщин репродуктивного возраста также отличается от мочи женщин в постменопаузе, как и образцы влагалищного содержимого.

По результатам проведенного исследования принципиальных различий по микробному составу мочи и образцов из влагалища у здоровых пациенток не обнаружено. По количеству образцы мочи были в сотни раз меньше обсеменены, чем образцы влагалищных соскобов. Таким образом, было принято решение о нецелесообразности и следования образцов мочи у пациенток из группы сравнения.

3.3. Лечение дисбиотических нарушений у пациенток, принимающих глюкокортикоидную терапию.

В результате проведенного исследования было установлено отсутствие жалоб и клинических проявлений нарушений биоценоза влагалища у всех обследованных пациенток, принимающих ГК терапию, независимо от возраста и особенностей менструальной функции. Структура биоценозов у пациенток основной группы в зависимости от возраста представлено на рис. 22.

При исследовании особенностей биоценозов в зависимости от длительности приема препаратов глюкокортикоидного ряда были также выявлены целый ряд особенностей (рис.23). Так, наблюдалось выраженное снижение частоты абсолютного нормоценоза с увеличением продолжительности терапии. Относительные различия по дисбиотическим характеристикам присутствовали в диапазоне продолжительности терапии от 1 до 3 лет. В дальнейшем, лидирующее положения занимали абсолютный и умеренный дисбиоз.

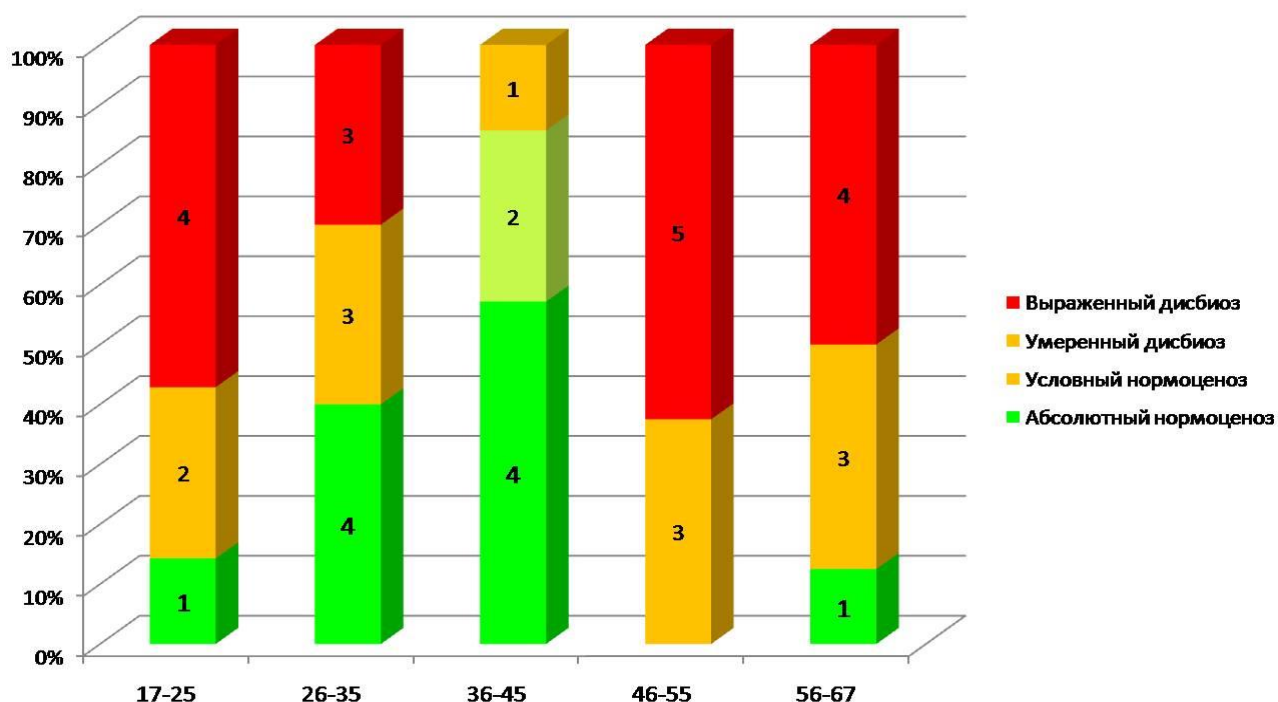


Рис. 22. Структура биоценозов у пациенток основной группы в зависимости от возраста.

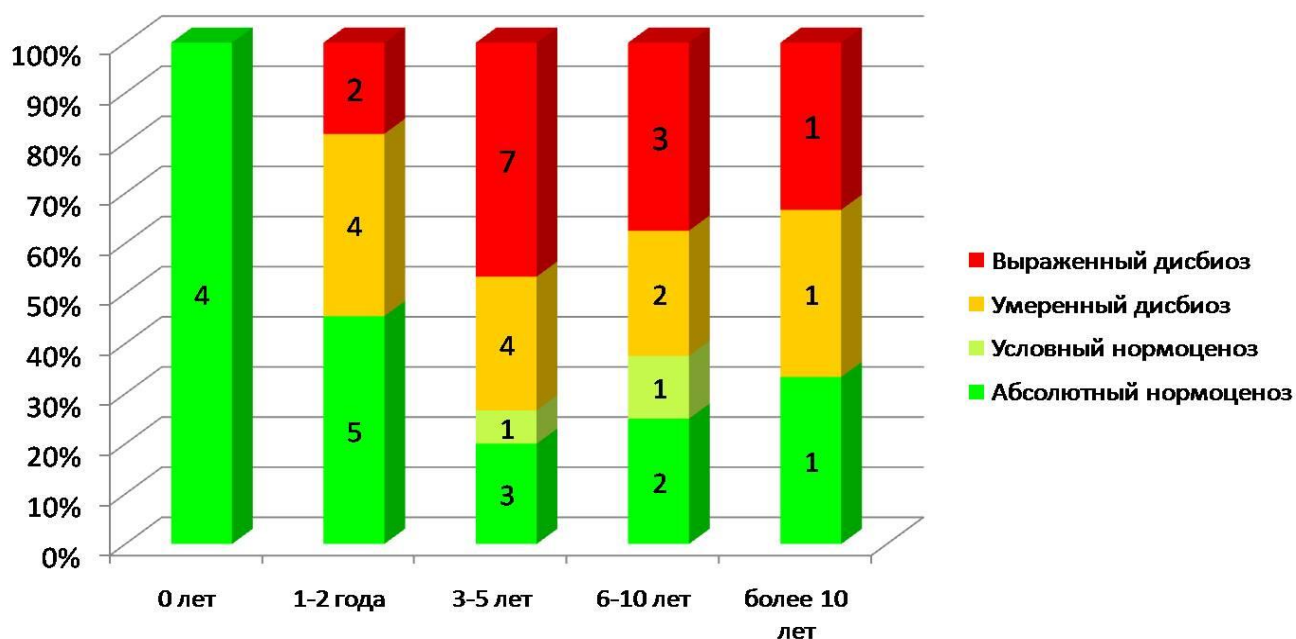


Рис. 23. Структура биоценозов у пациенток основной группы в зависимости от длительности глюкокортикоидной терапии.

При микроскопическом исследовании отделяемого влагалища, у 7 (17,1%) пациенток обнаружили кокковую флору, у 18 (43,9%) женщин - смешанную, у 16 (39,02%) пациенток – палочковую. У 22 (53,7%) пациенток количество

лейкоцитов варьировало в пределах от 5 до 10 в поле зрения, у остальных 19 (46,3%) женщин количество лейкоцитов не превышало 5 в поле зрения. По данным ПЦР-РВ только у 12 (29,27%) пациенток нормальная микрофлора влагалища осталась сохранной и составляла не менее 80% от общей бактериальной массы. У 29 (70,73%) женщин выявляли умеренные и выраженные дисбиотические нарушения. Выраженные дисбиотические нарушения обнаружили в 17 (41,46%) случаях, умеренные – в 12 (29,27%).

Таким образом, у обследованных пациенток в 59,3% наблюдений количество нормальной микрофлоры было снижено, в 22% ее количество снижено незначительно (умеренный анаэробный дисбиоз), в 38% диагностированы выраженные дисбиотические нарушения, более чем в половине случаев с участием анаэробных микроорганизмов.

Состояние нормоценоза (преобладание лактобактерий в количествах более 80% от всей бактериальной массы) не требует коррекции. По результатам проведенного обследования пациенткам с умеренными и выраженными нарушениями биоценоза влагалища была назначена комплексная двойная терапия (препарат Гинофлор Э) по схеме: 2 вагинальные таблетки в сутки в течение 12 дней.

Препарат Гинофлор Э предназначен для восстановления нормального биоценоза влагалища у женщин. Обе активные субстанции, входящие в состав препарата Гинофлор Э, эстриол (в незначительных количествах) и лактобактерии *Lactobacillus acidophilus*, участвуют в физиологическом механизме поддержания нормального биоценоза влагалища. Интравагинальное применение Гинофлора Э улучшает состояние эпителия влагалища и восстанавливает его нормальную флору. Лактоза, которая содержится в вагинальных таблетках как наполнитель, также может быть ферментирована лактобациллами в молочную кислоту

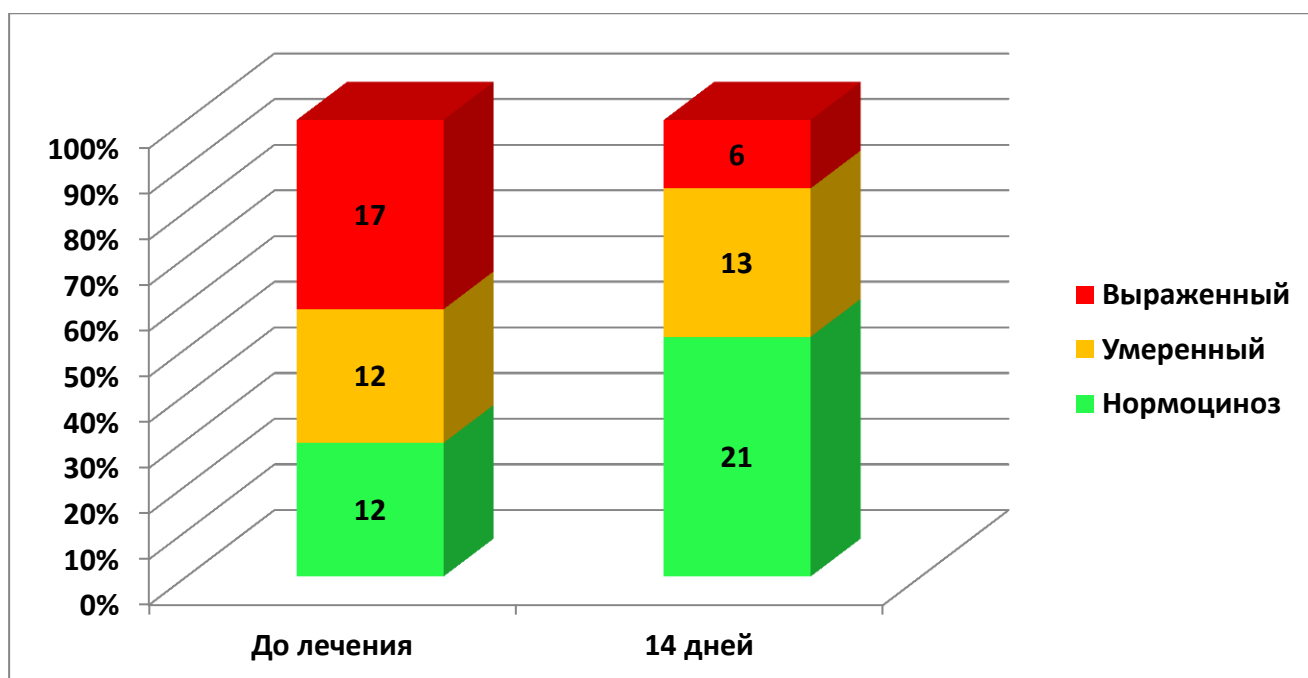
Штаммы лактобактерий, входящие в состав препарата «Гинофлор Э» (*Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356) представляют собой неотиповой штамм *L. acidophilus*. Начальное количество жизнеспособных микроорганизмов в одной вагинальной таблетке «Гинофлор Э» составляет 10^8 , а уже через 12 часов после

применения популяция достигает $10^{11} - 10^{12}$ (время деления составляет примерно 1 час). Учитывая, что в физиологических условиях во влагалище можно обнаружить около $10^6 - 10^9$ микроорганизмов на 1 мл влагалищного секрета, 100 млн. жизнеспособных *L. acidophilus* в составе каждой вагинальной таблетки обеспечивают благоприятные условия для восстановления физиологического биоценоза влагалища. «Гинофлор Э» содержит также микродозу эстриола (0,03 мг), представляющего собой конечный продукт метаболизма эстрадиола. Эстриол — короткодействующий гормон, чувствительность рецепторов к нему в десять раз ниже, чем к эстрадиолу. Именно поэтому эстриол оказывает трофическое действие на влагалищный эпителий и не влияет на эндометрий.

Современные представления о коррекции вагинального биоценоза склоняются к тому, что терапию нельзя считать завершённой до тех пор, пока микробиоценоз влагалища не будет восстановлен. Только такая тактика позволяет убедительно снизить вероятность рецидива инфекционного заболевания или дисбиотического состояния. Таким образом, применение двухкомпонентной терапии, направленной на коррекцию и восстановление биоценоза влагалища оправдано у пациенток, длительно принимающих глюкокортикоиды и, как следствие, находящихся в группе риска по рецидивирующим дисбиотическим нарушениям влагалищного биоценоза.

Результаты лечения препаратом Гинофлор Э через 14 дней представлены на рис.24. За 14 дней терапии частота выраженного дисбиоза снизилась в 2,5 раза, частота нормоценоза увеличилась в 2 раза. При этом количество пациенток с умеренным дисбиозом осталось без изменений.

Рис. 24. Структура биоценозов влагалища у женщин репродуктивного возраста до и после коррекции препаратом Гинофлор Э (наблюдение спустя 14 дней после окончания терапии).

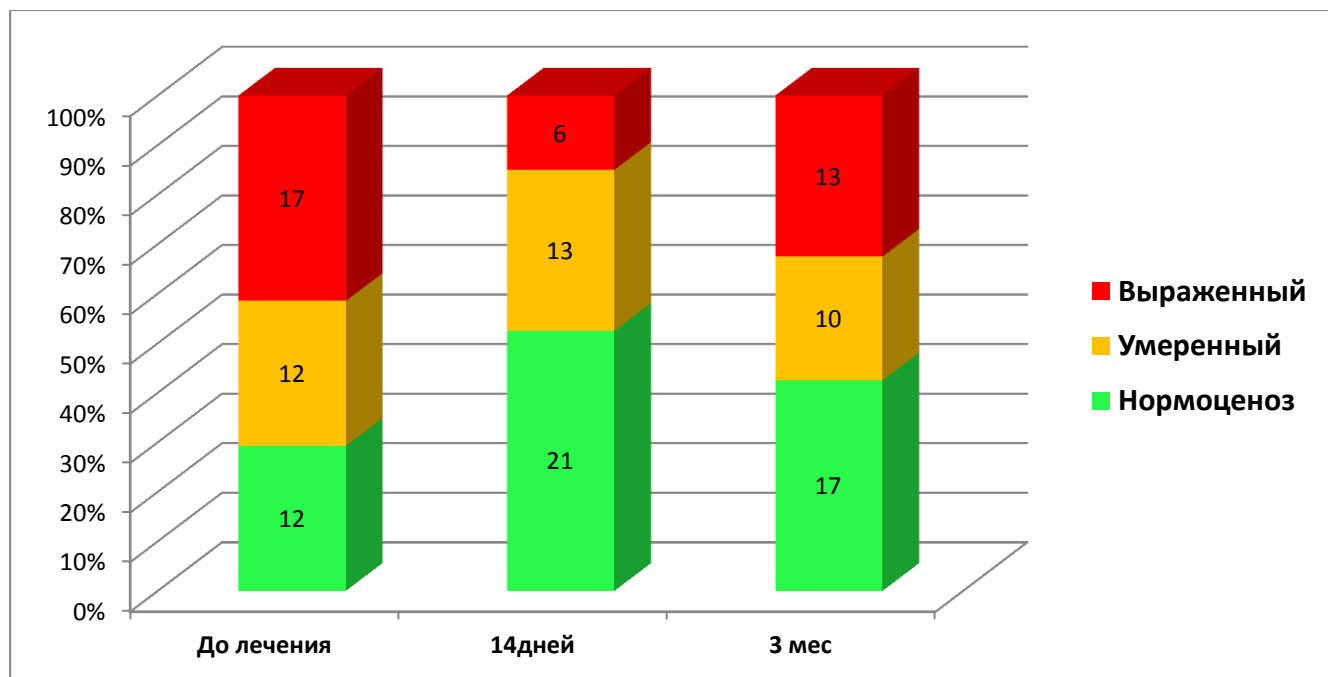


Таким образом, применение препарата Гинофлор Э, спустя 14 дней после лечения, позволяет сократить количество умеренных и выраженных дисбиозов почти вдвое.

Поскольку терапия глюкокортикоидными препаратами для большинства пациенток является пожизненной, то нас интересовал отдаленный эффект от применения двойной комплексной коррекции биоценоза влагалища. Через 3 месяца после окончания терапии было проведено еще одно исследование состояния биоценоза с применением ПЦР-РВ.

По результатам теста Фемофлор выраженные дисбиотические нарушения наблюдали в 13 (31,7%) случаях, умеренные – в 10 (24,39%) (Рис.25). Таким образом, общая динамика после применения двойной комплексной терапии препаратом, содержащим нормальную микрофлору влагалища и незначительные количества эстриола, оставалась положительной: удалось снизить количество выраженных дисбиотических изменений на 20% от первоначального количества, снизить число умеренных дисбиозов на 15% в группе пациенток, принимавших терапию и в целом улучшить состояние биоценоза влагалища в группе пациенток, длительно принимавших терапию глюкокортикоидами.

Рис. 25. Структура биоценозов влагалища в группе женщин на ГК до и после коррекции препаратом Гинофлор Э (наблюдение спустя 14 дней и 3 месяца после окончания терапии).



Спустя 3 месяца после проведенного лечения динамика восстановления влагалищного нормоценоза у пациенток была разнонаправленной (табл.24): из 11 женщин, не получавших терапию Гинофлором Э, умеренные дисбиотические нарушения анаэробного характера наблюдали у 1 пациентки, выраженный анаэробный дисбиоз – у 2 (7,4%). В группе пациенток с умеренными дисбиотическими нарушениями из 6 первоначальных пациенток спустя 14 дней после окончания терапии умеренный дисбиоз наблюдали у 4 пациенток, нормоценоз – у 2. Через 3 месяца после окончания терапии 2 пациентки так и остались с умеренными дисбиотическими нарушениями, 2 из 4 ухудшили свое состояние до выраженного анаэробного дисбиоза, а 2 так и остались в состоянии нормоценоза.

У пациенток, у которых диагностировали выраженные дисбиотические изменения биоценоза влагалища, спустя 14 дней после окончания терапии в половине случаев диагностировали сохранную лактофлору влагалища, а в половине случаев – у них так и оставались выраженные дисбиотические изменения. Спустя 3

месяца после окончания лечения у одной пациентки с выраженными дисбиотическими нарушениями наблюдали восстановление нормальной микрофлоры влагалища до умеренного дисбиоза, а у одной пациентки – регресс в сторону умеренного снижения количества лактофлоры от состояния абсолютного нормоценоза. У 4 пациенток с выраженными дисбиотическими нарушениями это состояние было устойчивым на протяжении 3 месяцев и плохо поддавалось коррекции при помощи двойной комплексной терапии. Из 5 пациенток, которые показывали восстановление нормоценоза спустя 14 дней после окончания терапии, спустя 3 месяца нормоценоз был диагностирован только у 4.

Таблица 24. Структура биоценозов и динамика изменений после проведенной терапии Гинофлором Э.

	До лечения	14 дней после терапии	3 месяца после терапии
Нормоценоз	11	11	8
Умеренный дисбиоз			1
Выраженный дисбиоз			2
Умеренный дисбиоз	6	4	2
Нормоценоз		2	2
Выраженный дисбиоз			2
Выраженный дисбиоз	10	5	4
Умеренный дисбиоз			2
Нормоценоз		5	4

Из всей группы пациенток со сниженным количеством лактобактерий в составе биоценоза влагалища лучше всего подвергались коррекции двойной комплексной терапией выраженные дисбиотические изменения биоценоза влагалища (улучшения до состояния нормоценоза наблюдали в 50% спустя 14 дней и в 40% случаев спустя 3 месяца после окончания терапии). Хуже поддаются коррекции умеренные дисбиотические нарушения и дисбиозы, причиной которых является факультативно-анаэробная или смешанная микрофлора. Это может быть связано как с особенностями микрофлоры, населяющей влагалище, так и с тем, что

состояние умеренных дисбиотических изменений является промежуточным и не очень устойчивым вариантом микробного сообщества, что приводит либо к восстановлению нормального биоценоза влагалища, либо к развитию выраженных дисбиотических нарушений, особенно в присутствии факторов риска (лекарственной терапии, например).

Независимо от клинических проявлений и предъявляемых жалоб, пациентки, получающие глюкокортикоидные препараты, нуждаются в углубленном обследовании биоценоза влагалища с помощью системы ФЕМОФЛОР, и при выявлении умеренных и выраженных дисбиотических нарушений влагалища должны получать местное лечение пробиотическими препаратами двойного действия. Для сохранения стабильного эффекта восстановления нормальной микрофлоры влагалища терапия пробиотиками должна проводиться курсами от 2 до 4 раз в год, в зависимости от состояния пациентки по данным ПЦР-РВ. Наблюдения за биоценозом влагалища у пациенток, принимающих терапию глюкокортикоидами необходимо проводить не реже 1 раза в 3 месяца – 1 раза в полгода.

ОБСУЖДЕНИЕ.

Терапия препаратами глюкокортикоидного ряда прочно заняла лидирующее место в лечебной практике. В современных условиях не осталось такой врачебной специальности, которая бы обошла применение глюкокортикоидов при лечении профильных видов патологии [7,8,22,32,36,37].

Начало применения глюкокортикоидов в качестве лекарственных средств (ЛС) относится к 40-м гг. XX века. Еще в конце 30-х гг. прошлого века было показано, что в коре надпочечников образуются гормональные соединения стероидной природы. В 1937 г. из коры надпочечников был выделен минералокортикоид дезоксикортикостерон, в 40-х гг. — глюкокортикоиды кортизон и гидрокортизон. Широкий спектр фармакологических эффектов

гидрокортизона и кортизона предопределил возможность их использования в качестве ЛС.

Основными показаниями к применению глюкокортикоидов являются коллагенозы, ревматизм, ревматоидный артрит, бронхиальная астма, острый лимфобластный и миелобластный лейкоз, инфекционный мононуклеоз, экзема и другие кожные болезни, различные аллергические заболевания. Для терапии atopических, аутоиммунных заболеваний глюкокортикоиды являются базовыми патогенетическими средствами. Применяют глюкокортикоиды также при гемолитической анемии, гломерулонефрите, остром панкреатите, вирусном гепатите и заболеваниях органов дыхания (ХОБЛ в фазе обострения, острый респираторный дистресс-синдром и др.). В связи с противошоковым эффектом глюкокортикоиды назначают для профилактики и лечения шока (посттравматического, операционного, токсического, анафилактического, ожогового, кардиогенного и др.).

Иммунодепрессивное действие глюкокортикоидов позволяет использовать их при трансплантации органов и тканей для подавления реакции отторжения, а также при различных аутоиммунных заболеваниях.

В настоящее время распространенность коллагеновых болезней несколько возросла [22]. Это обусловлено не только улучшением диагностики и более ранним выявлением заболеваний, но и широко рекламируемым приемом пациентками различных возрастных групп препаратов гормональной контрацепции и заместительной гормонотерапии. Традиционно женщины болеют коллагенозами значительно чаще мужчин. Таким образом, дополнительная гормональная нагрузка не могла не сказаться на увеличении частоты заболеваний данной группы [48].

Терапия коллагенозов не является специфической. Основные принципы симптоматического лечения сводятся к применению препаратов глюкокортикоидного ряда. Лечение проводится очень длительно и строго индивидуально. Как правило, назначают большие дозы глюкокортикоидов с постепенным снижением дозы. После проведенного лечения и достижения

ремиссии, пациенты принимают небольшие дозы гормональных препаратов месяцы и иногда годы.

У женщин, страдающих системными заболеваниями, глюкокортикоиды являются наиболее эффективными терапевтическими средствами. Однако, такому побочному действию данного вида терапии как нарушения микроценоза генитального тракта, уделяется недостаточное внимание [78, 94].

Мы предприняли данное исследование не только исходя из широкомасштабного применения препаратов данной фармакологической группы, но и из общей тяжести состояния, принимающих глюкокортикоиды пациентов. Дело в том, что общая тяжесть состояния, обусловленная основным заболеванием, оставляет за кадром такие «малозначимые» осложнения терапии, как комплексные нарушения биоценоза, в частности – влагалища, а также бессимптомное формирование очагов хронической инфекции, обусловленное активизацией условно-патогенной флоры [25].

Важно отметить, что диагностика этих состояний также чрезвычайно проблематична, ввиду отсутствия выраженной клинической симптоматики, обусловленной общей иммуносупрессией. Кроме того, использование стандартизированного подхода к диагностическим мероприятиям по выявлению скрытого инфекционного процесса не позволяют определить его источник и морфотип провоцирующего агента [23,32].

В любой период жизни женщины для поддержания биоценоза влагалища необходимо четкое взаимодействие иммунной и эндокринной систем организма. Только абсолютная гармония этих двух составляющих обеспечивает колонизационную резистентность влагалища [38].

Несмотря на существующие эволюционно сложившиеся механизмы противoinфекционной защиты нижнего отдела полового тракта женщины, имеется достаточное количество факторов, способных нарушать их баланс за счет чрезмерной вегетации и инвазии в вагинальный эпителий транзиторной микрофлоры. В современных условиях к превалирующим факторам формирования дисбиоза влагалища следует отнести медикаментозный и

эндокринный. Нерациональное назначение антибактериальной терапии, длительное применение комбинированных препаратов для гормональной контрацепции и заместительной гормональной терапии, широкое внедрение в практику глюкокортикоидов, резкое увеличение частоты заболеваний эндокринной системы, приводящих к гипоестрогении, вызывают выраженный дисбаланс в экосистеме влагалища. При этом важно отметить, что подавляющее большинство из вышеуказанных лекарственных средств обуславливают не только состояние дисбиоза, но и его клинические проявления, в то время как действие препаратов глюкокортикоидного ряда остается за кадром.

Не секрет, что глюкокортикоиды вызывают множество эффектов [36, 37]. Эти препараты обладают противовоспалительным, десенсибилизирующим, противоаллергическим и иммунодепрессивным действием, противошоковыми и антитоксическими свойствами. Противовоспалительный эффект глюкокортикоидов неспецифичен и развивается в ответ на любые повреждающие стимулы: физические, химические, бактериальные или патологические иммунные, такие как гиперчувствительность или аутоиммунные реакции. Именно неспецифический характер противовоспалительного эффекта глюкокортикоидов делает их пригодными для воздействия на многочисленные патологические процессы [53,54].

Важно помнить, что действие глюкокортикоидов не затрагивает причин, лежащих в основе воспалительного заболевания, и никогда его не излечивает. При этом подавление клинических проявлений воспаления имеет огромное клиническое значение [22].

Применение препаратов глюкокортикоидного ряда не только подавляет воспалительный компонент, но и тесно функцию системы гипоталамус — гипофиз — надпочечники, выраженно подавляя ее активность и соответственно, формируя гипоестрогенные состояния. В нашем исследовании мы подтвердили формирование экзогенно обусловленной гипоестрогении у женщин, принимающих глюкокортикоиды. Определение концентрации половых стероидов не являлось основной целью исследования, однако выявленные закономерности

(гипоэстрогения) позволили нам более точно сформулировать этиопатогенетическое звено диагностированных нарушений.

Именно этими механизмами действия глюкокортикоидов обусловлена картина нарушений биоценоза влагалища у женщин независимо от возраста. Это атрофия слизистой за счет развившейся гипоэстрогении, это бессимптомное течение за счет неспецифического противовоспалительного и десенсибилизирующего действия.

В настоящее время установлено, что гормональные нарушения в организме женщины создают благоприятный фон для развития воспалительного процесса в нижних отделах гениталий [31,46,47]. Резистентность слизистой оболочки влагалища к инфекции во многом определяется насыщенностью организма эстрогенами, которые стимулируют пролиферацию многослойного плоского эпителия и повышают продукцию гликогена в поверхностных клетках. Непрерывно слущивающиеся эпителиальные клетки подвергаются цитолизу с высвобождением гликогена, который является идеальным субстратом для жизнедеятельности и роста нормальной микрофлоры влагалища -лактобактерий. При снижении уровня эстрогенов нарушается процесс образования гликогена, ухудшаются условия для жизнедеятельности лактобактерий, количество которых уменьшается. Таким образом, пациентки в постменопаузе, получающие терапию глюкокортикоидами, находятся в заведомо невыгодных условиях. Во-первых, они имеют физиологическое снижение концентрации эстрогенов, а во-вторых – терапия глюкокортикоидами маскирует возможные клинические проявления дисбиоза. Длительное бессимптомное нарушение нормоценоза влагалища, преобладание облигатно-анаэробных условно-патогенных микроорганизмов и подавление воспалительного ответа является серьезным фактором риска для развития восходящей инфекции мочеполовых путей [17, 43,45].

Результаты современных исследований позволяют характеризовать вагинальную флору как динамически изменяющуюся систему. В женском репродуктивном тракте на фоне нормальной микрофлоры могут существовать и

условно-патогенные микроорганизмы, не вызывающие клинических симптомов заболевания – такой тип микрофлоры называется промежуточным.

Микробиоценоз является весьма чувствительным индикатором, реагирующим количественными и качественными изменениями на любые сдвиги внешней и внутренней среды [58]. Изменение численности того или иного вида микроорганизмов в биотопе или появление не свойственных данному местообитанию бактерий служит сигналом об адаптивных или необратимых изменениях в соответствующем звене микроэкологической системы. Основными механизмами защиты слизистой оболочки влагалища являются:

- ацидофильные лактобактерии, продуцирующие молочную кислоту и перекись водорода. Они являются основной составляющей нормальной микрофлоры влагалища. Их количество у женщин репродуктивного возраста в норме не менее 10^{7-9} ГЭ/образец;

- достаточный уровень эстрогенов, обеспечивающий созревание сквамозного влагалищного эпителия, накопление в нем гликогена, и достаточную плотность рецепторов к лактобактериям;

- сквамозный характер многослойного плоского эпителия;

- достаточный местный иммунитет, обеспечиваемый IgA.

Именно эти моменты физиологии влагалища должны быть учтены и обеспечены при лечении влагалищной инфекции.

Установлено, что наиболее заметные и динамичные изменения влагалищной флоры происходят в ответ на гормональные сдвиги в организме [58,74].

В частности, глюкокортикоиды подавляют образование мукополисахаридов, являющихся основным питательным субстратом для микроорганизмов в составе биоценоза слизистой влагалища, также снижая функции лейкоцитов и макрофагов. Таким образом, длительная системная терапия оказывает влияние на состояние биоценоза влагалища, снижая количество бактерий и нормальной микрофлоры у женщин репродуктивного возраста. В результате длительной терапии значительно изменяется

микробиоценоз влагалища, идет сдвиг в сторону умеренных и выраженных дисбиотических нарушений. При этом особенности терапии основного заболевания предполагают отсутствие воспалительного ответа на рост условно-патогенных микроорганизмов. Длительное нарушение нормоценоза влагалища, преобладание облигатно-анаэробных условно-патогенных микроорганизмов и подавление воспалительного ответа является серьезным фактором риска для развития восходящей инфекции мочеполовых путей [17,68,76].

К сожалению, все обследованные нами пациентки, получающие ГК по поводу системных заболеваний, были с точки зрения стандарта обследования **АБСОЛЮТНО ЗДОРОВЫ!** [11,31,32]. Ни один из методов диагностики, применяемых согласно стандарту обследования гинекологических и урологических больных, не выявил в данной группе пациенток имеющихся нарушений. При этом оказались совершенно бесполезными такие методы диагностики как мазок влагалищного секрета с окраской по Граму, посев на флору с определением чувствительности к антибиотикам и ПЦР-диагностика на патогены. По результатам данных методов обследования пациентки были **ЗДОРОВЫ**.

Если рассуждать об изменениях биоценоза влагалища, то в первую очередь следует отметить, что ***данная картина не соответствует параметрам БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА.*** [15, 16].

Международная классификация болезней X пересмотра International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision Version for 2006 не выделяет бактериальный вагиноз в самостоятельное заболевание. Поэтому статистически его относят к невоспалительным заболеваниям влагалища.

В настоящее время под бактериальным вагинозом (Bacterial vaginosis) понимают инфекционный невоспалительный синдром, характеризующийся значительным снижением количества или отсутствием нормальной лактофлоры влагалища и ее заменой на полимикробные ассоциации **строгих** анаэробов.

Бактериальный **вагиноз** – дисбиоз влагалищной экосистемы, заболевание, при котором в экосистеме влагалища преобладают не лактобациллы, а ассоциация гарднерелл, микоплазм и *Mobilincus*. Возбудитель *Gardnerella vaginalis* – мелкие грамотрицательные или вариабельные неподвижные полиморфные бактерии. **Бактериальный вагиноз** можно рассматривать, как инфекционный невоспалительный синдром, характеризующийся резким снижением или отсутствием лактофлоры и ее заменой на полимикробные ассоциации строгих анаэробов и гарднереллы, концентрация которых достигает 10^9 – 10^{11} КОЕ/мл вагинального отделяемого.

Диагностическим критерием в 99% случаев **бактериального вагиноза** считается наличие триады симптомов: повышение pH > 4,5 (обычно 5,0– 5,5); наличие ключевых клеток (клетки плоского эпителия, границы которых покрыты коккобактериями) при микроскопии; положительная аминовая проба (при добавлении к вагинальному секрету 10%-ного раствора КОН появляется неприятный специфический «рыбный» запах).

Диагноз бактериального вагиноза считается подтвержденным при наличии **трех или четырех признаков из предложенных критериев [15]:**

- Осмотр влагалища зеркалом, кольпоскопии - обильные гомогенные, белосерые с неприятным запахом выделения; **ЭТОГО НЕТ!**
- Определение pH влагалища индикаторной полоской, pH > 4,5 **ЭТОГО НЕТ!**
- Тест КОН - добавление к выделениям из влагалища в пробирке 10% КОН, появление специфического запаха; **ЭТОГО НЕТ!**
- Микроскопия мазка из выделений из влагалища как нативного препарата или окрашенного по Грамму - обнаружение "ключевых клеток" **ЭТОГО НЕТ!**

Каковы же маркеры бактериального вагиноза?

С момента определения бактериального вагиноза, как самостоятельного заболевания, безусловным признаком (маркером) его считали **вагинальную гарднереллу** (*Gardnerella vaginalis*). Однако уже вскоре было установлено, что

вагинальная гарднерелла присутствует в небольшом количестве во влагалище у многих здоровых женщин. Следующим претендентом на маркер бактериального вагиноза считался **мобилункус**, но было также установлено, что частота его обнаружения высока у женщин и без бактериального вагиноза. Впоследствии попытки найти микроорганизм, наличие которого было бы специфично только для бактериального вагиноза были оставлены и диагностика его была основана только на клинико-лабораторных критериях [64,72-75.80]. Однако в 1992 году был открыт **Atopobium vaginae**, в 1999 году была установлена его связь с бактериальным вагинозом, а в настоящее время он рассматривается как микроорганизм, специфичный для бактериального вагиноза [60,82.89,96]. Реальными претендентами на маркеры бактериального вагиноза считаются **Leptotrichia species, Megasphaera sp. и группа вагиноз-ассоциированных бактерий Clostridium phylum**. Помимо подтверждающего значения для диагноза бактериального вагиноза, определение его маркеров позволяет дифференцировать бактериальный вагиноз от аэробного вагинита, также сопровождающегося отсутствием нормальной лактофлоры и повышением вагинального pH [81]. В настоящее время выделяют 2 группы маркеров бактериального вагиноза:

Маркеры

Низкоспецифичные

- Gardnerella vaginalis
- Mobiluncus sp.
- Leptotrichia sp.
- Megasphaera sp.

Определяются у здоровых женщин и у больных бактериальным вагинозом.

Методы диагностики: микроскопия, ПЦР, культура.

Высокоспецифичные

- Atopobium vaginae
- Вагиноз-ассоциированные бактерии Clostridium phylum.

- Mucinase
- Sialidase

Определяются только у женщин с бактериальным вагинозом.

НИЧЕГО ИЗ ВЫШЕУПОМЯНУТОГО НЕТ У НАШЕЙ ПОДГРУППЫ БОЛЬНЫХ!

Следующий вопрос – это **микробный пейзаж мочи**. В первую очередь следует отметить, что это состояние **НЕ ЯВЛЯЕТСЯ БЕССИМПТОМНОЙ БАКТЕРИУРИЕЙ**.

Наличие в моче бактерий (даже в сочетании с лейкоцитами), но при отсутствии жалоб расценивается как бессимптомная бактериурия. Обязательному скринингу на бессимптомную бактериурию подлежат пациенты с высоким риском осложнений:

- Беременные (оптимальный срок для исследования — 16-я неделя беременности). Лечение бессимптомной бактериурии у беременных женщин приводит к снижению частоты развития пиелонефрита с 1,8 до 0,6%.
- Пациенты, подвергшиеся инвазивным урологическим процедурам.
- Иммунодефициты (иммуносупрессивная терапия, ВИЧ-инфекция).
- Лихорадка неясного генеза.
- Клинические проявления инфекции мочевых путей у ребёнка младше 6 лет.

Бессимптомную бактериурию можно диагностировать, если количество бактерий в моче, которое соответствует истинной бактериурии, обнаруживается, по крайней мере, в двух пробах [17]. При этом симптомы развития инфекции в организме полностью отсутствуют. Согласно статистике, бессимптомную бактериурию одинаково часто определяют как у беременных, так и у небеременных женщин. **(ЭТОГО ТОЖЕ НЕТ!)**

Проблема бессимптомной бактериурии (ББ) давно беспокоит как узких специалистов – нефрологов, урологов, гинекологов, так и врачей общей практики.

Имеющаяся сегодня в распоряжении практического врача литература не позволяет четко сориентироваться в тактике диагностики и лечения ББ.

В 2005 году вышли в свет Рекомендации по диагностике и лечению бессимптомной (асимптомной) бактериурии у взрослых Американского общества инфекционных болезней (Infectious Diseases Society of America (IDSA) Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults), согласованные с обществом нефрологов и геронтологов США. Однако, будучи практически исчерпывающими по диагностике ББ, они довольно скупо рассматривают вопросы лечения, ограничиваясь лишь общими рекомендациями. Указанный пробел восполняют опубликованные также в 2005 году "Рекомендации по диагностике и лечению неосложненной инфекции мочевыводящих путей" Американской ассоциации семейных врачей и рекомендации Американского колледжа терапевтов "Инфекции мочевыводящих путей".

В рекомендациях "бессимптомная бактериурия" или бессимптомная (асимптомная) инфекция мочевыводящих путей определяются как изолированное появление определенного количества бактерий в образце мочи, полученном в условиях, исключающих контаминацию, при отсутствии симптомов мочевого инфекции.

ББ – микробиологический диагноз, который основывается на результатах культивирования образца мочи, собранной в условиях, минимизирующих загрязнение. При этом отмечается, что в настоящее время диагностика заболеваний мочевыводящих путей врачами общей практики (США, страны Европы) проводится при помощи экспресс-методов. В отношении бактериурии – это НИТРАТНЫЙ ТЕСТ. Данный тест может быть негативным, если микроорганизмы не восстанавливают нитраты. Это чаще Enterococci, S. saprophyticus, Acinetobacter и др. Поэтому чувствительность теста колеблется в пределах от 35 до 85%. Кроме того, тест может быть отрицательным при недостаточно концентрированной моче. Поэтому в настоящее время единственно достоверным методом выявления ББ является метод уринокультуры.

Диагноз ББ устанавливается:

- у женщин при обнаружении одного и того же штамма бактерий в количестве $\geq 10^5$ (100 тыс.) КОЕ/мл (колониеобразующих единиц) в двух последовательных анализах мочи;
- у мужчин при обнаружении одного штамма бактерий в количестве $\geq 10^5$ (100 тыс.) КОЕ/мл в одном анализе мочи;
- у лиц обоего пола при получении образца мочи катетером и обнаружении одной разновидности бактерий в количестве $\geq 10^2$ (100) КОЕ/мл.

Наиболее типичным микроорганизмом, выделяемым у женщин с ББ, является *Escherichia coli*, часто встречаемыми являются и другие энтеробактерии (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus*), стрептококк группы В и *Gardnerella vaginalis*. Лица с долговременными мочевыми устройствами имеют полимикробную бактериурию, часто включающую *Pseudomonas aeruginosa*, *P. mirabilis*, *Providencia stuartii* и *Morganella morganii*.

Критерием избраны 100 тыс. КОЕ потому, что при взятии мочи катетером или даже путем надлобковой пункции (повторно с различными интервалами до 1 недели) именно это число достоверно ($\geq 95\%$) подтверждало бактериурию, определенную при свободном мочеиспускании.

Исследования последних лет показали, что если у женщин два анализа дали ББ, то и третий статистически достоверно ($\geq 95\%$) дает тот же самый результат, а у лиц мужского пола достаточно одного положительного анализа (98%). Важно отметить и то, что не обязательно второй анализ делать на следующий день, достаточно исследовать другое независимое мочеиспускание. ББ у мужчин с $\geq 10^3$ КОЕ/мл также является достоверной (97%), но у них, как правило, отмечаются симптомы заболеваний мочеполового тракта, поэтому бессимптомной ее назвать нельзя.

Лица с хроническими заболеваниями почек, затрудненным мочеиспусканием, а также с некоторыми нетипичными микроорганизмами (например, протей) имеют другие (меньшие) количественные критерии, но пока Американское общество инфекционных болезней не может взять на себя смелость определенно

высказаться по данному вопросу. Исследования по поводу отмеченных состояний продолжаются.

Актуальность затронутой темы и уникальная группа обследованных пациенток позволяют сделать выводы о том, что для пациенток, длительно принимающих терапию глюкокортикоидами, необходим индивидуальный план обследования, включающий углубленный лабораторный анализ биоценоза влагалища и позволяющий проводить оценку риска возникновения инфекционных заболеваний урогенитального тракта, а также проведение профилактики развития дисбиотических нарушений микрофлоры влагалища.

ВЫВОДЫ.

1. Терапия глюкокортикоидами должна рассматриваться клиницистами как изолированный фактор формирования бессимптомных дисбиотических нарушений микробиоценоза влагалища.

2. Качественный и количественный состав биоценоза влагалища у пациенток репродуктивного возраста и в постменопаузе, получающих терапию глюкокортикоидами, имеет значительные отличия от такового у женщин, вне терапии. Биоценоз влагалища пациенток с терапией глюкокортикоидами характеризует высокая частота дисбиотических нарушений при отсутствии клинических признаков патологии влагалища, снижение общего количества бактерий, значительное снижение нормофлоры (более чем в 10 раз относительно контрольной группы).

3. Изменения микрофлоры влагалища, диагностированные у пациенток, принимающих глюкокортикоидную терапию, более выражены на фоне сопутствующих нарушений менструальной функции. Так, при исследовании микрофлоры влагалища высокоточными методами - ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени в группе репродуктивного возраста абсолютный нормоценоз диагностирован у 9 (33,3%), условный нормоценозу 2 (7,4%),

умеренный дисбиоз у 6 (22%), выраженный дисбиоз у 10 (38%) пациенток. При этом в группе постменопауза абсолютный нормоценоз диагностирован у 1, выраженный дисбиоз у 7 (50%), а умеренный – у 6 (44,8 %) женщин.

4. В группе пациенток с терапией глюкокортикоидами отмечено снижение общей обсемененности влагалища и значительное снижение нормальной микрофлоры влагалища. В формировании дисбиотических нарушений различной степени тяжести выявлена значительная роль условно-патогенных облигатно-анаэробных микроорганизмов представителей групп *Gardnerella vaginalis*, *Eubacterium spp.*, *Sneathia spp.*, *Megasphaera spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, а для женщин в постменопаузе еще и *Atopobium vaginae*. Сообщества микроорганизмов влагалища представлены одновременно большим числом групп облигатно-анаэробных микроорганизмов. Частота встречаемости генитальных микоплазм и дрожжеподобных грибов рода *Candida* в количестве более 10^4 ГЭ в группе пациенток, получающих терапию глюкокортикоидами, составила 14-21% и не отличалась от таковой в группе сравнения.

5. Состояние абсолютного нормоценоза у пациенток, получавших терапию глюкокортикоидами, является не устойчивым вариантом биоценоза за счет присутствия условно-патогенных факультативно- и облигатно-анаэробных микроорганизмов в диагностически значимых количествах (более 1% от всех микроорганизмов).

6. В связи с преобладанием в составе биоценоза облигатно-анаэробных микроорганизмов и отсутствием жалоб, углубленный лабораторный анализ биоценоза влагалища необходимо проводить в качестве скрининга всем пациенткам, получающим терапию глюкокортикоидами. ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени – чувствительный метод для выявления микроорганизмов в различном биоматериале. Диагностика микробных сообществ при помощи теста Фемофлор, позволяет выявлять даже незначительные количества микроорганизмов, на пределе аналитической чувствительности

метода (т.е. около $10^{2,5} - 10^3$ ГЭ/образец, т.е. сотни – тысячи клеток в соскобе из уrogenитального тракта или в образце мочи).

7. Пациентки в постменопаузе, получающие терапию препаратами глюкокортикоидного ряда, являются группой высокого риска восходящей инфекции мочевыделительной системы. Данная группа больных нуждается в тщательном исследовании влагалищного биотопа современными методами лабораторной диагностики выявления условно-патогенных облигатно-анаэробных микроорганизмов.

8. Микробный состав мочи у пациенток, принимающих глюкокортикоидную терапию, по качественному составу похож на микробный состав соскобов, полученных из влагалища, независимо от сохранности менструальной функции, что обусловлено сменой локуса обитания микроорганизмов с формированием восходящей инфекции на фоне общей иммуносупрессии.

9. Влагалище является источником микробной экспансии в верхние отделы уrogenитального тракта женщин, в частности, в уретру и мочевой пузырь, что подтверждается количеством микроорганизмов в образцах мочи, относительно образцов из влагалища. Образцы мочи содержат микроорганизмов в сотни и тысячи раз меньше. Максимальная роль в формировании микробного пейзажа уретры и мочевого пузыря у пациенток, принимающих терапию глюкокортикоидами принадлежит *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.*, *Atopobium vaginae*, а также представителям семейства *Enterobacteriaceae*.

10. Учитывая изменение трофики слизистой влагалища, для снижения риска возникновения инфекционных заболеваний уrogenитального тракта, а также профилактики и лечения дисбиотических изменений влагалища, терапия глюкокортикоидами должна сопровождаться местным применением эстрогенов и пробиотиков.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Пациентки любого возраста, получающие терапию препаратами глюкокортикоидного ряда, нуждаются в проведении профилактических курсов коррекции биоценоза влагалища пробиотиками.

2. Местное назначение пробиотиков целесообразно проводить курсом через 3 месяца в течение 6-10 дней на всем протяжении лечения глюкокортикоидами.

3. Учитывая наличие атрофических изменений влагалищной стенки, обусловленных экзогенно индуцированной приемом глюкокортикоидов гипоестрогенией, препаратом выбора следует считать влагалищные свечи, содержащие эстриол (группа гормонов эстрогенов) – 0,03 мг и лактофильные лактобактерии (группа эубиотиков) – 50 мг в 1 влагалищной таблетке. Эстриол является эстрогеном короткого действия, оказывает защитное трофическое действие на влагалищный эпителий и не имеет системного воздействия на организм женщины. *Lactobacillus acidophilus* являются доминирующими микроорганизмами влагалища здоровой женщины и обладают антагонистической активностью в отношении патогенных и условно патогенных микроорганизмов.

4. Профилактическое и лечебное местное назначение пробиотиков у пациенток, получающих глюкокортикоидную терапию, не требует предварительных дополнительных рутинных исследований. Получение «отрицательных» результаты таких исследований, как мазок из влагалища с окраской по Граму и посев не должны приниматься во внимание как не информативные у данной группы больных.

5. Местное назначение пробиотиков пациенткам, находящимся на глюкокортикоидной терапии, существенно снижает риск развития бессимптомных форм восходящих инфекций мочевыводящих путей.

6. Тест «ФЕМОФЛОР» должен быть включен в СКИНИНГОВОЕ обследование пациенток, принимающих глюкокортикоиды, как единственный

метод, позволяющий в быстро (1-2 дня) и в полном масштабе оценить как состояние биотопа влагалища, так и микробный профиль мочи.

Список литературы

1. Анкирская А. С. Неспецифические вагиниты // Медицина для всех 2000 - Т. 2 №17..
2. Анкирская А. С., Муравьева В. В. Опыт микробиологической диагностики оппортунистических инфекций влагалища // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2001 - Т. 3 №2. С. 190-194.
3. Арзамасцев А.П., Садникова Н.О. Оральные контрацептивы // Consilium provisorum. 2002. Т. 2. № 4. С. 15–17.
4. Г. Р. Байрамова, В. В. Муравьева, А. Е. Донников, О. В. Бурменская, Е. С. Ворошила, Л. В. Тумбинская, Оценка эффективности комплексной терапии больных с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом, Российский вестник акушера-гинеколога, №2, 2011, с.86-88
5. Байчурина А.З., Голубицын А.А., Маклецова С.А. Контрацепция (противозачаточные средства).М., 1999..
6. Т.Н. Бебнева, В.Н. Прилепская, А.Б. Летуновская Лактобактерии и эстриолв коррекции биоценоза влагалища Фарматека № 9 — 2010 ;24-28
7. Белоусов Ю. Б., Омеляновский В. В. Клиническая фармакология болезней органов дыхания.— М.: Универсум паблишинг, 1996.— С. 119—130.
8. Березняков И. Г. Глюкокортикостероиды: клиническое применение (пособие для врачей).— Харьков, 1995.— 42 с.
9. Буянова С.Н., Мгелиашвили М.В. Профилактика и лечение бактериального вагиноза после антибиотикотерапии в оперативной гинекологии, Российский вестник акушера-гинеколога, 2009.-N 5.-С.82-84.
10. Бухарин О.В. Динамика персистентных свойств микроорганизмов под влиянием физико_химических воздействий // Персистенция патогенных бактерий / Под ред. Бухарина О.В. М., 1999. С. 285–289.

11. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е., Плотко Е.Э., Хаютин Л.В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? Акушерство и гинекология, 2011, № 1, 57-65).
12. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е., Плотко Е.Э., Хаютин Л.В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? Акушерство и гинекология, 2011, № 2, 54-57).
13. Доброхотова Ю. Э., Затицян Н. Г. Современные представления о механизмах развития дисбиоза влагалища //ОРЖИН 2008 - Т. 1 С. 7-9.
14. Иванов Ю.Б., Черкасов С.В., Кузьмин М.Д. и др. Влияние препаратов стероидных гормонов на персистентные и ростовые характеристики стафилококков // Журн. микробиологии. 1997. № 4. С. 92–95.
15. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. — Спб.: ООО «Нева-Люкс», 2001.- 363 с.) (Кира, Е.Ф. Бактериальный вагиноз / Е.Ф. Кира. – СПб.: ООО «Нева-Люкс», 2001. – 363 с., Кира Е.Ф.
16. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз (клиника, диагностика, лечение): Автореф. дисс. докт. мед. наук. СПб. 1995. 44 с. 1.
17. Ковалева Л.А. Особенности профилактики и лечения инфекций мочевых путей у женщин. Гинекология, 15(2), 2013 г.: С. 8–11.
18. Кудрявцева Л.В., Ильина Е.Н., Говорун В.М., Липова Е.В., Баткаев Э.А. и др. Бактериальный вагиноз. Пособие для врачей. М 2002; 58.
19. Кунгуров Н. В., Евстигнеева Н. П., Кузнецова Ю. Н., Зильберберг Н. В., Сергеев А. Г. Микоплазменные инфекции урогенитального тракта / Курган: "Зауралье", 2010. - 130 с. .
20. Методики клинических лабораторных исследований. Справочное пособие / Москва: Лабора, 2009. - 880 с.
21. Методы статистической обработки медицинских данных, МР, Москва, 2012 год, 42 с. МЗ РФ, Российский кардиологический НПК.

22. Насонов Е.Л., Иванова М.М., Панин Д.И. Глюкокортикоиды в ревматологии: опыт использования Соллю-Медрол // Клин. фармак. и фармакотер., 1994, 3, 46-49.
23. Новая медицинская технология. Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест Фемофлор) – М.: 2011. – 33 с.).
24. Пестрикова Т.Ю., Ковалева Т.Д., Калмыкова Л.Н. Клинический опыт применения препарата трирегол в реабилитации больных воспалительными заболеваниями органов малого таза // Проблемы репродукции. 1999. № 3.С. 15–18.
25. Плахова К. И., ГомбергМ. А., АтрошкинаМ. Е., ИльинаЕ. Н., ГоворунВ. М. Роль *Atorobium vaginae* при рецидивировании бактериального вагиноза //Вестник дерматологии и венерологии 2007 - №5. С. 10-13;
26. Погорельская Л.В., Кисина В.И., Беднова В.Н. и др. Применение бактериальных биологических препаратов в комплексном лечении урогенитальных инфекций у больных с дисбактериозом кишечника // Вестник дерматологии и венерологии. 1996. № 2.С. 76.
27. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта. Методические рекомендации для лечащих врачей / А. М. Савичева, Е. В. Соколовский, М. Домейка — Санкт-Петербург: «Издательство Н-Л», 2007.— 60 с. — (Серия Ex libris «Журнал акушерства и женских болезней»). ISBN 978-5-94869-040-7)
28. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р., Нарушения микробиоценоза влагалища, пути его коррекции, Гинекология, 2007.-N 4.-С.25-27.).
29. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р., Анкирская А.С., Вагинальная микрэкосистема влагалища в норме и при патологии, Гинекология, 2009.-N 3.. Том 11 -С.9-11.).
30. Прилепская В.Н., Кондриков Н.И., Тагилева Т.Т. Контрацепция инъекционным препаратом депо_провера // Акушерство и гинекология. 1995. № 3. С. 7–9

31. Пристли С.Дж., Джонс В.М., Дхар Дж. и др. Что такое нормальная влагалищная флора? //Заболевания, передаваемые половым путем.1997. № 4. С. 12–18..
32. Руководство по лабораторной диагностике инфекций урогенитального тракта/ под.ред. Домейка М., Савичева А.М., Соколовский Е., Баллард Р., Унемо М. – Санкт-Петербург: «Издательство Н-Л», 2012.— 287 с. ISBN 978-5-94869-143-5).
33. Савельева И.С. Комбинированные оральные контрацептивы как профилактика аборта и лечение его осложнений // Гинекология. 2002. Т. 4. № 3. С. 20–22.)
34. Савичева А. М., Мартикайнен З. М., Селимян Н. К. Оценка действия препарата Тержинан на дрожжеподобные грибы рода *Candida* и вагинальные лактобациллы *in vivo* и *in vitro* //Практикующий врач 2004 - №3. С. 43-44;
35. Сигидин Я. А., Гусева Н. Г., Иванова М. М. Диффузные болезни соединительной ткани.— М.: Медицина, 1994.— 544 с.
36. Страчунский Л.С, Козлов С.Н. ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫЕ ПРЕПАРАТЫ методическое пособие Смоленская государственная медицинская академия, Кафедра клинической фармакологии, 1997, 30 с.
37. Терапевтический справочник Вашингтонского университета (под ред. М. Вудли, А. Уэлан).— М.: Практика, 1995.— 832 с.
38. Тумбинская Л.В., Ворошилина Е.С., Донников А.Е., Плотко Е.Э., Байрамова Г.Р. Особенности биоценоза влагалища у женщин с нормальным и промежуточным типом мазка по результатам ПЦР-РВ. Акушерство и гинекология, 2011, № 1, 66-70.
39. Шипицына Е. В.,. Мартикайнен З. М. Воробьева Н. Е М. С. Ермошкина О. С. Степанова А. Е. Донников Ю. А. Скоркина Л. В. Тумбинская А. М. Савичева Применение теста ФЕМОФЛОР для оценки микробиоценоза влагалища Журнал акушерства и женских болезней том LVIII выпуск 3. 2009, с.44-50
40. Ямбор Е., Багдань Ш., Секереш Л. Современные гормональные противозачаточные средства “Гедеон Рихтер”.Будапешт, 1996

41. Уварова Е. В., Султанова Ф. III. Влагалище как микроэкосистема в норме и при воспалительных процессах гениталий различной этиологии (обзор литературы) //Гинекология 2002 - Т. 4 №4. С. 189–195
42. AndrewsWW, Goldenberg RL, Faye-Petersen Oetal. TheAlabama Preterm Burth study: polymorhonuclear and mononuclear cell placental infiltrations, other markers of inflammation, and outcomes in 23-to 32-week preterm newborn infants. Am J Obstet Gynecol 2006; 195: 803.)
43. Applied Therapeutics: The clinical use of drugs. 6th ed. Young L.Y., Koda-Kimble M.A. (Eds). Vancouver. 1995
- 44.Articular and periarticular corticosteroids injections // Drug Therapeut. Bull., 1995, 33: 67-70.
- 45.Avery's Drug Treatment – Principles and practice of clinical pharmacology and therapeutics. 3rd ed. Speight T.M. (Ed.). Manchester etc. ADIS Press. 1987
- 46.AvontsD., SercuM., HeyerickP. etal. Incidence of uncomplicated genital infections in women using oral contraception or intrauterine device: a prospective study // Sex. Transm.Dis. 1990. V. 17. № 1.P. 23–29.].
- 47.Bankole H Oladeinde, Richard Omoregie, and Oladapo B Oladeinde. Asymptomatic Urinary Tract Infection among Pregnant Women Receiving Ante-Natal Care in a Traditional Birth Home in Benin City, Nigeria. Ethiop J Health Sci. 2015 Jan; 25(1): 3–8. PMCID: PMC4337079
- 48.Beck R.W., Cleary P.A., Anderson M.M. et al. A randomized, controlled trial of corticosteroids in the treatment of acute optic neuritis // N. Engl. J. Med., 1992, 326: 581-588.
- 49.Boumpas D. T., Chrousos G. P., Wilder R. L., Cupps T. R. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates.— Annals of internal medicine.— 1993.— Vol.119, № 12.— P. 1198—1208.
50. Bradshaw C. S., Tabrizi S. N., Fairley C. K., Morton A. N., Rudland E., Garland S. M. The association of Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy // J Infect Dis. - 2006. - Vol. 194. - №6. - P. 828-836.;

51. DeBackerE., VerhelstR., VerstraelenH., ClaeyG., VerschraegenG., TemmermanM., Vaneechoutte M. Antibiotics susceptibility of *Atopobium vaginae* // BMC Infect Dis. - 2006. - Vol. 6. - P. 51.).
52. Donders G.G., Bellen G., Mendling W. Management of recurrent vulvo-vaginal candidosis as a chronic illness. Gynec Obstet Int 2010;4:70:306-321.,
53. Drazen J.M., Israel E. Treating mild asthma - when are inhaled steroids indicated? // N. Engl. J. Med., 1994, 331: 739-741
54. Caldwell J.R. Intra-articular corticosteroids. Guide to selections and indications for use // Drugs, 1996, 52: 507-514.
55. Celeste R. K., Nadanovsky P., De Leon A. P. Association between preventive care provided in public dental services and caries prevalence // Rev Saude Publica. - 2007. - Vol. 41. - №5. - P. 830-838.).
56. Cerutti M., Canestrelli M., Condemni V. Method of contraception and rates of genital infections // Clin. Exp. Obstet. Gynecol. 1994. V. 21. № 2. P. 119–123.]
57. Cohn D., Tomkins R., Nichols W. Glucocorticoids in the management of vasculitis – a double edged sword? // J. Rheumatol., 1988, 15: 1181-1183.
58. Collins M. D., Wallbanks S. Comparative sequence analyses of the 16S rRNA genes of *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus rimae* and *Streptococcus parvulus*: proposal for the creation of a new genus *Atopobium* // FEMS Microbiol Lett. - 1992. - Vol. 74. - №2-3. - P. 235-240
59. Cotch M.F., Hillier S.L., Gibbs R.S. et al. Epidemiology and outcomes associated with moderate to heavy *Candida* colonization during pregnancy // Amer. J. Obstet. Gynecol. 1998. V. 178. P. 374–380.
60. DeBackerE., VerhelstR., VerstraelenH., ClaeyG., VerschraegenG., TemmermanM., Vaneechoutte M. Antibiotics susceptibility of *Atopobium vaginae* // BMC Infect Dis. - 2006. - Vol. 6. - P. 51.).
61. Donders G.G., Bellen G., Mendling W. Management of recurrent vulvo-vaginal candidosis as a chronic illness. Gynec Obstet Int 2010;4:70:306-321
62. Eschenbach D.A., Patton D.A., Meyer A. et al. Effects of oral contraception pill use on vaginal microflora and epithelium // J. Infect. Dis. 2001. V. 183. № 6. P. 13–18]

63. Evans B.A., McCormack S.M., Kell P.D. et al. Trends in female sexual behavior and sexually transmitted diseases in London // *Genitourin. Med.* 1995. V. 71. № 5. P. 286–290.
64. Faro S. Vaginal flora and pelvic inflammatory disease // *J. Reprod. Med.* 1998. V. 33. Suppl. 6. P. 566–570.]. Klebanoff S.J., Hillier S.L, Eschenbach D.A. et al. Control of microbial flora of the vagina by H₂O₂-generating Lactobacilli // *J. Infect. Dis.* 1991. V. 169. P. 94–109.
65. Johnson R. E., Newhall W. J., Papp J. R., Knapp J. S., Black C. M., Gift T. L., Steece R., Markowitz L. E., Devine O. J., Walsh C. M., Wang S., Gunter D. C., Irwin K. L., DeLisle S., Berman S. M. Screen in gtest to detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections--2002 // *MMWR Recomm Rep.* - 2002. - Vol. 51. - № RR-15. - P. 1-38; quiz CE31-34.).
66. Haggerty C. L., Totten P. A., Ferris M., Martin D. H., Hoferka S., Astete S. G., Ondondo R., Norori J., Ness R. B. Clinical characteristics of bacterial vaginosis among women testing positive for fastidious bacteria // *Sex Transm Infect.* - 2009. - Vol. 85. - № 4. - P. 242-248.;
67. Hanauer S.B. Inflammatory bowel disease // *N. Engl. J. Med.*, 1996, 334: 841-848.
68. Hashemi F. B., Ghassemi M., Roebuck K. A., Spear G. T. Activation of human immunodeficiency virus type 1 expression by *Gardnerella vaginalis* // *J Infect Dis.* - 1999. - Vol. 179. - № 4. - P. 924-930
69. Hettiarachchi N., Ashbee H.R., Wilson J.D. Prevalence and management of non-albicans vaginal candidiasis. *Sex Transm Infect* 2010;2:86:99-100.).
70. Hyman R. W., Fukushima M., Diamond L., Kumm J., Giudice L. C., Davis R. W. Microbes on the human vaginal epithelium // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* - 2005. - Vol. 102. - № 22. - P. 7952-7957
71. *Gardnerella* biofilm involves females and males and transmitted sexually / A. Swidsinski, Y. Doerffel, V. Loening-Baucke et al. // *Gynecol. Obstet. Invest.* 2010. - Vol. 70. - № 4. - P. 256-263.

72. Gene polymorphisms of Toll-like and related recognition receptors in relation to the vaginal carriage of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae*/ H. Verstraelen, R. Verhelst, L. Nuytinck et al. *J.Reprod.Immunol.* -2009. Vol.79. -N.2. - P. 163-173.
73. Guaschino S. SOPHY project: an observational study of vaginal pH and lifestyle in women of different ages and in different physiopathological conditions. Part I / G.S. Guaschino, C. Benvenuti // *Minerva Ginecol.* — 2008,— Vol. 60.—№2,—P. 105-114.
74. *Lactobacillus* strains isolated from the vaginal microbiota of healthy women inhibit *Prevotella bivia* and *Gardnerella vaginalis* in coculture and cell culture / F. Atassi, D. Brassart, P. Grob et al. // *Med. Microbiol.* 2006. - Vol.4. - P.424-432.
75. Luminex detection of fecal indicators in river samples, marine recreational water, and beach sand /1. B. Baums, K. D. Goodwin, T. Kiesling et al. // *Mar. Pollut. Bull.* 2007. - Vol.54. - P.521-536.
76. Mendes-Soares H, Krishnan V, Settles ML, Ravel J, Brown CJ, Forney LJ. Fine-scale analysis of 16S rRNA sequences reveals a high level of taxonomic diversity among vaginal *Atopobium* spp. *Pathog Dis.* 2015 Mar 15. pii: ftv020. PMID: 25778779.
77. Meyer H., Gottlicher S. Psychosocial risk factors in vulvovaginal mycosis. A multi variative long term study // *Mycoses.* 1998. V. 41. № 2. P. 49–51.].
78. McGovan J.E., Chesney P.J., Crossley K.B. et al. Guidelines for the use of systemic glucocorticosteroids in the management of selected infections // *J. Infect. Dis.*, 1992, 165: 1-13.
79. McMillan A., Dell M., Zellar M. P., Cribby S., Martz S., Hong E., Fu J., Abbas A., Dang T., Miller W., Reid G. Disruption of urogenital bio films by lactobacilli // *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces.* - 2011. - Vol. 86. - №1. - P. 58-64.).
80. Modulation of human b-defensin-e expression by 17b-estradiol and progesterone in vaginal epithelial cells / J.H. Han, M.S. Kim, M.Y. Lee et al. // *Cytokine.* 2010. - Vol.49. - P.209-14.

- 81.Moi H. Prevalence of bacterial vaginosis and its association with genital infections, inflammation, and contraceptive methods in women attending sexually transmitted disease and primary health clinics // Int. J. STD AIDS. 1990.V. 1. № 2.P. 86–94.].
- 82.Monsen T, Rydén P. Flow cytometry analysis using sysmex UF-1000i classifies uropathogens based on bacterial, leukocyte, and erythrocyte counts in urine specimens among patients with urinary tract infections. J Clin Microbiol. 2015 Feb;53(2):539-45. doi: 10.1128/JCM.01974-14. Epub 2014 Dec 3. PMID: 25472486
- 83.Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* loads to predict bacterial vaginosis / J. P. Menard, F. Fenollar, M. Henry et al. // Clin. Infect. Dis. 2008. - Vol.47. - P.33-43.
- 84.MillerL., PattonD.L., MeyerA. etal. Depo medroxyprogesterone_induced hypoestrogenism and changes in vaginal flora and epithelium //Obstet. Gynecol. 2000. V. 96. № 3. P. 431–439.]
- 85.NohmiT., AbeS., DobashiK. etal.Supression of anti_Candida activity of murine neutrophyls by progesterone in vitro // Microbiol. Immunol.1996. V. 40.№ 3. P. 217–222.]
- 86.OvermannB. The vagina as anecologic system: current understanding and clinical applications //J. Nurse Midwifery. 1993. V. 38. № 3. P. 146–151.],
- 87.Olsen AB, Andersen PK, Bank S, Søby KM, Lund L, Prag J. *Actinobaculum schaalii*, a commensal of the urogenital area. BJU Int. 2013 Aug;112(3):394-7. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11739.x. Epub 2013 Jan 25. PMID: 23350855
- 88.Quantitative, longitudinal profiling of the primate fecal microbiota reveals idiosyncratic, dynamic communities / J.Wireman, M. Lowe, A. Spiro et al. // Environ. Microbiol. -2006. Vol.8. -P.490-503.
- 89.Petersen E. E. Efficacy and safety of vitamin C vaginal tablets in the treatment of non-specific vaginitis. A randomised, double blind, placebo-controlled study / E. E. Petersen, P. Magnani // Eur.J. Obstet. Gynecol. 35Reprod. Biol. 2004. Vol. 117. N 1. M. 70–75.

90. Prevalence of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* in virginal women / S. N. Tabrizi, C. K. Fairley, C. S. Bradshaw et al. // Sex. Transm. Dis. 2006. - Vol. 33.-№ 11.-P. 663-665.
91. Promoter haplotypes of the interleukin-10 gene influence proliferation of peripheral blood cells in response to helminth antigen / C. Timmann, S. Fuchs, C., Thoma et al. // Genes Immun. 2004. -Vol. 5,-№4.-P. 256-60.
92. Pyrosequencing of the chaperonin-60 universal target as a tool for determining microbial community composition / S J. chellenberg, M. G. Links, J. E. Hill et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2009. - Vol. 75. - P.2889-2898.
93. Preliminary characterization of the normal microbiota of the human vulva using cultivationindependent methods / C. J. Brown[et al.] // J. Med. Microbiol. 2007. Vol. 56. N 2. M. 271–276.
94. Recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. American college of reumatology task force on osteoporosis guidelines // Arthritis & Rheumatism, 1996, 39: 1791-1801.
95. Quagliarello V.J., Scheld W.M. Treatment of bacterial meningitis // N. Engl. J. Med., 1997, 336: 708-716.
96. Reid G. The potential for probiotics to prevent bacterial vaginosis and preterm labor / G. Reid, A. Bocking // Am. J. Obstet. Gynecol. 2003. Vol. 189. N 4. M. 1202–1208.
97. Rodriguez Jovita M., Collins M. D., Sjoden B., Falsen E. Character ization of a novel *Atopobium* isolate from the human vagina: description of *Atopobium vaginae* sp. nov // Int J Syst Bacteriol. - 1999. - Vol. 49 Pt 4. - P. 1573-1576.)
98. Ronald F. Lamont, BSc, Jack D. Sobel, Robert A. Akins, Sonia S. Hassan, Tinnakorn Chaiworapongsa, Juan Pedro Kusanovic, and Roberto Romero, The vaginal microbiome: New information about genital tract flora using molecular based techniques, BJOG. Authormanuscript; available in PMC Apr 1, 2012.
99. Roy S. Nonbarrier contraceptives and vaginitis and vaginosis // Amer. J. Obstet. Gynecol. 1991. V. 165. № 4. P. 1240–1244.].

100. Sachar D.B. Budesonide for inflammatory disease - is it a magic bullet? // N. Engl. J. Med., 1994, 331: 873-874.
101. Schmidt A., Idehen C.F., Mending W. Oral contraceptive use and vaginal Candida colonization // Zentralbl. Gynakol. 1997. V. 119. № 11. P. 49–53.
102. Schoubnikova M., Hellberg D., Mardth P.A. Contraception use in women with bacterial vaginosis // Contraception. 1997. V. 55. № 6. P. 355–358.].
103. SchorgeJ., SchafferJ., HalvorsonL., HoffmanB., BradshawK., CunninghamF. WilliamsGynecology /: McGraw-HillProfessional, 2008. - 1216 c.
104. Spear G.T. Bacterial vaginosis and human immunodeficiency virus infection / G.T.Spear, E.St John, M.R.Zariffard // AIDS Research and Therapy. 2007. - Vol.4. - P.25-30
105. Targeted PCR for detection of vaginalbacteria associated with bacterial vaginosis / D. N. Fredricks, T. L. Fiedler, K. K. Thomas et al. // J. Clin. Microbiol. 2007. - Vol.45. - P.3270-3276.
106. The association of Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy / C. S.Bradshaw, S. N.Tabrizi, C. K. Fairley et al. // J. Infect. Dis.-2006.-Vol.194.-№6.-P. 828-836.
107. The lower genital tract microbiota in relation to cytokine-, SLPI- and endotoxin levels: application of checkerboard DNA-DN A hybridization (CDH) / N. Nikolaitchouk, B. Andersch, E. Falsen et al. // APMIS. 2008. - Vol. 11. - P.263-277.
108. The association of Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy / C. S. Bradshaw [et al.] // J. Infect. Dis. 2006. Vol. 194.N 6. M. 828–836.
109. The effectiveness of live lactobacilli in combination with low dose oestriol (Gynoflor) to restore the vaginal flora after treatment of vaginal infections / E. Ozkinay [et al.] // BJOG. 2005. Vol. 112. Iss.2. P. 234–240.
110. Taylor-RobinsonD. The history of nongonococcal urethritis // SexualTransmittedDiseases. - 1996. - Vol. 23. - №1. - P. 86-91.;

111. Zhou X., Bent S. J., Schneider M. G., Davis C. C., Islam M. R., Forney L. J. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods // Microbiology. - 2004. - Vol. 150. - №Pt 8. - P. 2565-2573.),
112. Zhou X, Brown CJ, Abdo Z, Davis CC, Hansmann MA, Joyce P, et al. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. ISME J. 2007;1(2):121–133.).
113. Zozaya-Hinchliffe M. Prevalence and abundance of uncultivated Megasphaera-like bacteria in the human vaginal environment / M.Zozaya-Hinchliffe, D. H. Martin, M. J. Ferris // Appl. Environ. Microbiol. 2008,- Vol.74. - P. 1656-1659.
114. Voellmy R. The stress protein response: consequences of stress exposurecytoprotection-potential diagnostic and therapeutic applications / R.Voellmy //Methods. 2005. - Vol.35. -P. 115-116.
115. Wilson J. Managing recurrent bacterial vaginosis / J.Wilson //Sex. Transm. Infect. -2004. Vol.80. - P.8-11.
116. Witkin SS, Linhares IM, Giraldo P. Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation 3. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2007;21(3):347–354.).