

На правах рукописи

ВАН НАНЬ

**ПРОФИЛАКТИКА РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО БАКТЕРИАЛЬНОГО
ВАГИНОЗА НА ОСНОВЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ
РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЛАКТОБАКТЕРИЙ ЕСТЕСТВЕННЫМИ
ФИЗИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ**

14.01.01 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ВОЛГОГРАД - 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Жаркин Николай Александрович**

Научный консультант:

доктор медицинских наук, доцент **Савченко Татьяна Николаевна**

Официальные оппоненты:

Синчихин Сергей Петрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

Гордон Кирилл Владиславович – доктор медицинских наук, профессор кафедры восстановительной медицины, физиотерапии, мануальной терапии, ЛФК и спортивной медицины ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

Ведущая организация: ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии»

Защита состоится «_____» _____ 2017 года в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.10 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» и на сайте www.volgmed.ru, а с авторефератом – на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ www.vak.ed.gov.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 2017 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Селихова Марина Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Бактериальный вагиноз (БВ) является наиболее ярким проявлением дисбиоза влагалища, представляя собой инфекционный невоспалительный синдром, формирующийся на фоне нарушения микроэкологии влагалища (Donders G.G., 2014; Кира Е.Ф., 2014; Хрянин А.А., Решетников О.В., 2016; Балан В.Е. с соавт., 2017).

Среди небеременных пациенток, обращающихся с жалобами на обильные влагалищные выделения, БВ диагностируется в 95% случаев (Галич С.Р., 2012; Летяева О.И., 2014). Усиленный интерес исследователей к этой проблеме обусловлен взаимосвязью БВ с бесплодием, угрозой выкидыша, преждевременными родами, несвоевременным излитием околоплодных вод, внутриутробным инфицированием плода, воспалительными процессами в послеродовом периоде, а также цервикальной неоплазией (Провоторова Т.В. с соавт., 2015; Липова В.Е., 2015; Васильченко О.Н. с соавт., 2016; Беликова Т.С., 2016; Wen A., 2014; Foxman B. et al., 2014; Mengistie Z. et al., 2014; Baldwin E.A. et al., 2015).

Одной из важнейших проблем является высокая частота рецидивов БВ, достигающая 80 – 90% случаев через 12 месяцев после традиционной комплексной двухэтапной терапии (Радзинский В.Е., 2013; Руднева О.Д. с соавт., 2013; Березовская Е.С. с соавт., 2013; Савичева А.М. с соавт., 2014; Логутова Л.С. с соавт., 2015; Подгорная А. В. с соавт., 2016; Bingbing Xiao et al., 2016). Среди причин столь частого рецидивирования особое место принадлежит формированию «бактериальных» пленок, сопровождающих БВ в 90% случаев и значительно осложняющих процесс лечения (Чеботарь И.В. с соавт., 2012; Буданов П.В. с соавт., 2015; Логутова Л.С., 2015).

По данным ряда авторов, эффективному разрушению микробных биопленок могут способствовать лактобактерии (Савичева А.М., Шалепо К.В. с соавт., 2014). Однако применение пробиотиков, содержащих лактобактерии не снижает частоту рецидивов БВ, что обуславливает снижение качества жизни и репродуктивного потенциала пациенток. В связи с этим снижение частоты рецидивов БВ является актуальной задачей современной гинекологии.

Таким образом, сложившаяся тенденция к росту заболеваемости БВ и крайне неблагоприятное его влияние на репродуктивное здоровье женщины требуют разработки и внедрения в практику патогенетически обоснованных методов лечения, обеспечивающих профилактику рецидивов БВ.

Степень разработанности темы исследования

Не вызывает сомнений необходимость двухэтапной терапии рецидивирующего бактериального вагиноза в связи с частым сочетанием этого заболевания с неспецифическим вагинитом (Кира Е.Ф., 2012; Прилепская В.Н., 2015). Если содержание первого этапа лечения, включающее антианаэробные препараты и при необходимости – антимикробные препараты широкого спектра действия (согласно результатам бактериологических исследований) для

элиминации условно-патогенной флоры признано абсолютно необходимым началом лечения, то относительно второго этапа нет единого мнения в отношении выбора метода восстановления микробиоты влагалища. Использование пробиотиков и попытка подкисления влагалищной среды не приводит к ожидаемой длительной ремиссии (Хрянин А.А., 2016, Руднева О.Д., 2013). Применение преформированных физических факторов также имеет ограниченные возможности из-за трудностей широкого их внедрения (Синчихин С.П. с соавт., 2014; Царькова М.А., 2014; Цуригова З.А. с соавт., 2015; Gordon K. et al., 2012). Вышеизложенное требует разработки новых, более доступных и эффективных подходов к лечению и профилактике рецидивов БВ.

Цель исследования

Разработать метод снижения частоты рецидивов бактериального вагиноза у небеременных женщин путем повышения колонизационной резистентности слизистой влагалищного биотопа и восстановления пула лактобактерий как доминирующей флоры нормального биоценоза влагалища.

Задачи исследования

1. Изучить особенности нарушения колонизационной резистентности слизистой оболочки влагалищного биотопа определением пула лактобактерий у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом.
2. Разработать метод восстановления влагалищного биоценоза с использованием грязи и рапы (бромного рассола хлоридно-магниевонатриевого состава с содержанием бишофита) озера Эльтон.
3. Изучить действие природных бальнеологических факторов озера Эльтон на состояние колонизационной резистенции слизистой оболочки влагалища, определяемой численностью лактобактерий, у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом.
4. Провести клиническую оценку влияния бальнеотерапии на восстановление пула лактобактерий влагалища в сравнении с известными методами ремоделирования микроэкосистемы влагалища при рецидивирующем бактериальном вагинозе.

Научная новизна

Впервые исследовано влияние сильносульфидной грязи и рапы (бромного рассола хлоридно-магниевонатриевого состава с содержанием бишофита) озера Эльтон на состояние лактобациллярной флоры влагалища у небеременных женщин с бактериальным вагинозом. Усовершенствован второй этап лечения пациенток с БВ, в рамках которого разработана и применена комплексная бальнеотерапия природными лечебными факторами озера Эльтон, обеспечившая восстановление пула лактобактерий влагалищного биотопа. Проведена сравнительная оценка эффективности предложенного метода в профилактике рецидивов бактериального вагиноза.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработанный метод бальнеотерапии, как второй этап лечения, позволяет восстановить пул лактобактерий влагалищного биотопа, что обеспечивает снижение частоты рецидивов бактериального вагиноза в 3,5 раза через год после лечения, и повышение качества жизни пациенток за счет устранения клинических симптомов заболевания.

Методология и методы исследования

В работе использована общенаучная методология, основанная на системном подходе с изменением формально-логических, общенаучных и специфических методов. Для достижения поставленной цели использовался комплексный подход, включающий клинические, молекулярно-генетические (ПЦР), микробиологические и статистические методы.

Положения, выносимые на защиту

1. Лактобактерии, содержащиеся в пробиотических средствах для лечения бактериального вагиноза, обеспечивают низкую колонизационную резистентность влагалищному биотопу, что обуславливает высокую частоту рецидивов заболевания.
2. Применение природных бальнеологических факторов озера Эльтон на втором этапе лечения пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом обеспечивает повышение колонизационной резистентности слизистой оболочки влагалища посредством увеличения пула собственных лактобактерий, что сопровождается снижением обсемененности ассоциантами БВ и подавлением роста аэробных условно-патогенных микроорганизмов влагалищного биотопа.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Достоверность диссертационного исследования и обоснованность выводов подтверждается достаточным объемом выборки, корректным анализом и интерпретацией полученных результатов, статистической обработкой данных и соблюдением принципов доказательной медицины.

Основные положения научного исследования доложены и обсуждены на 17-й Поволжской научно-практической конференции «Пути сохранения здоровья матери и ребенка» (Волгоград, 2015); 24-м Европейском конгрессе акушеров-гинекологов (Турин, Италия, 2016), Региональной научно-практической конференции «Пути сохранения репродуктивного здоровья женщин» (Волгоград, 2017), 23-м Международном конгрессе «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья» (Москва, 2017).

Результаты проведенного исследования внедрены в работу физиотерапевтического кабинета женской консультации ГУЗ «Клинический родильный дом №2» г. Волгограда, отделения восстановительных методов лечения ГБУЗ «ВОКБ №3» г. Волгограда и образовательный процесс кафедры

акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 2 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для публикации основных научных результатов исследования на соискание ученой степени кандидата наук и одна в зарубежной печати.

Личный вклад автора

Исследователем лично 100% проведен поиск и анализ отечественной и зарубежной литературы, обследование пациенток, оценка анамнеза жизни, гинекологического анамнеза, гинекологического статуса, забор биологического материала для микробиологического, микроскопического и молекулярно-генетического исследования (ПЦР), интерпретация и анализ результатов микробиологического исследования в динамике лечения, формирование базы данных и статистический анализ полученного материала. Аспирантом лично проведено 65% сеансов бальнеотерапии. Оформление текста опубликованных печатных работ, рукописи диссертации выполнялись аспирантом.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, списка сокращений и списка литературы. Библиография содержит 152 наименования, из них 48 – зарубежных авторов и 104 отечественных. Работа иллюстрирована 15 таблицами, 16 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Проведено клиническое и лабораторное обследование 320 небеременных женщин репродуктивного возраста, обратившихся в женскую консультацию с жалобами на обильные выделения из влагалища. Диагноз «бактериальный вагиноз» был верифицирован у 107 человек из 320. Обследование пациенток проводили в период с 2014 по 2016 гг. на базе женской консультации ГУЗ «Клинический родильный дом №2» г. Волгограда. Лабораторные исследования полученных материалов проведены в лаборатории клиники «Академическая» (зав. лабораторией Сухорукова А.С.).

Исследование состояло из 2-х разделов: оценки диагностических тестов бактериального вагиноза и последующей сравнительной характеристики эффективности разных схем терапии рецидивирующего бактериального вагиноза. У 107 пациенток с БВ была проведена 2-х этапная терапия: на первом этапе антианаэробными препаратами, нередко – в сочетании с препаратами широкого спектра действия, а на втором – восстановление микробиоценоза влагалища.

Все обследованные на 2-м этапе лечения были разделены на 2 группы. В группу сравнения вошла 51 пациентка, которым с целью восстановления микробиоценоза половых путей применяли пробиотик, содержащий лактобактерии *Lactobacillus casei rhamnosus LCR35* в сочетании с питательной средой и молочной кислотой (I группа). Основную группу из 56 человек составили пациентки, которые на 2-м этапе лечения получали бальнеотерапию (грязь и рапу) (II группа).

Критериями включения в исследование явились: возраст от 18 до 45 лет, наличие бактериального вагиноза, верифицированного обнаружением патологического характера выделений; увеличением рН влагалища больше 4.5; соответствием заключения микроскопии мазка, окрашенного по Граму; картине БВ по критериям Ньюджента, равной 7-10 баллов; согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: беременность, наличие острого воспалительного процесса органов малого таза, гонококковая, трихомонадная, хламидийная, уреоплазменная, микоплазменная, вирусная (герпес, ВПЧ) и грибковая инфекции, отказ от участия в исследовании.

Клиническим материалом для микробиологического исследования явилось отделяемое заднего и боковых сводов влагалища, полученное при осмотре с помощью гинекологического зеркала. Материал получали с помощью ложки Фолькмана или желобоватого зонда для микроскопического исследования. Из канала шейки матки отделяемое получали с помощью стерильной цитощетки, которую вводили в цервикальный канал на глубину 1,5 см и одноразовых зондов для исследования методом ПЦР. Биоматериал для ПЦР-исследования помещали в пробирки типа Эппендорф (США), содержащие транспортную среду объемом 1,5 мл. Для микроскопического исследования клинический материал из влагалища помещали на 2 предметных стекла:

- для окраски 1% раствором метиленового синего и традиционной световой микроскопии;

- для окраски по Граму и расширенной микроскопии с целью определения критериев бактериального вагиноза (по Nugent). Высушенные на открытом воздухе препараты направлялись в лабораторию.

Микроскопическое исследование нативных препаратов проводилось сразу после получения клинических материалов.

Протокол исследования рассмотрен и одобрен Региональным Этическим Комитетом (протокол № 183-2013 от 04 октября 2013 года).

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Дизайн исследования



Рисунок 1. Дизайн исследования

С целью оценки общего состояния и установления диагноза использовали следующие данные: жалобы, анамнез, объективное обследование, специальный гинекологический осмотр (осмотр наружных половых органов, осмотр с применением гинекологических зеркал, бимануальное влагалищное исследование).

Определение рН влагалища

Для определения рН влагалища применяли индикаторные тест-полоски со шкалой (интервал 4.0-7.0; шаг 0.3-0.5; «Фармаско», Украина). При рН влагалища более 5.0 менялась по цвету индикаторная часть полоски. Значение рН фиксировалось по соответствующей приведенной шкале на упаковке.

Аминовый тест

Каплю отделяемого влагалища помещали на предметное стекло, добавляли каплю 10% раствора КОН. Проявляющийся при этом запах аммиака оценивался как позитивный результат на бактериальный вагиноз.

Микроскопические методы исследования

Для изучения состояния вагинального микроценоза, а также с целью диагностики трихомонадной или гонорейной инфекции (В соответствии с требованиями Приказа МЗ СССР № 936 от 12.07.85. «Об унификации лабораторных методов исследования в диагностике гонореи и трихомониаза»,

Приказа МЗ СССР № 1570 от 04.12.86. “Об улучшении выявления больных гонореей и трихомониазом в акушерских и гинекологических отделениях (палатах, кабинетах), женских консультациях и урологических кабинетах поликлиник”, Приказа МЗ РФ № 415 от 20. 08.2003 “Гонококковая инфекция”) проводили микроскопическое исследование вагинального, цервикального и уретрального отделяемого. Для проведения микроскопического исследования окрашенных препаратов клинический материал из уретры, влагалища и цервикального канала помещали на два предметных стекла. Одно стекло предназначалось для окрашивания по Граму, второе – метиленовым синим. Окраска метиленовым синим дает окрашивание клеточных элементов и бактерий в один и тот же цвет. Окраска по Граму позволяет дифференцировать в препарате розовые (грамотрицательные) и фиолетовые (грамположительные) микроорганизмы. При микроскопическом исследовании влагалищного отделяемого одновременно с поиском трихомонад, гонококков, дрожжеподобных грибов рода *Candida* оценивали количество лейкоцитов, качественный состав микрофлоры (массивное количество микрофлоры с преобладанием анаэробов, количество лактобацилл, многослойный плоский эпителий, поверхность которого покрыта адгезированными бактериями - «ключевые» клетки).

При этом качественная оценка микрофлоры проводилась по морфотипам и тинкториальным свойствам, количественная – согласно критериям Ньюджента (Nugent R.P., 1991) в модификации А.С. Анкирской (2001). Это стандартизованная система оценки микробиоценоза влагалища, основана на подсчете в вагинальном отделяемом трех бактериальных морфотипов, таких как крупные грамположительные бактерии (лактобациллы), небольшие грамотрицательные или грамвариабельные бактерии (*Gardnerella vaginalis* и анаэробные бактерии) и изогнутые грамотрицательные или грамвариабельные бактерии (например, *Mobiluncus*). Метод Ньюджента позволяет определить изменения бактериальных морфотипов, проявляющиеся в исчезновении нормальных лактобацилл и доминировании *Gardnerella* и анаэробов, а также *Mobiluncus*. Оценка проводилась по шкале от 0 до 10, в зависимости от количества микроорганизмов в поле зрения светового микроскопа.

Исследование методом ПЦР в режиме «реального времени»

Для диагностики бактериального вагиноза использовали тест «Фемофлор-16» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) для количественного определения ДНК ассоциированных с бактериальным вагинозом бактерий: *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Ureaplasma urealiticum*, *Mycoplasma hominis*, *Prevotella spp.*, *Megasphaera spp.* и др. микроорганизмов, а также *Lactobacillus spp.* и общего количества бактерий. В основу метода положена комплексная количественная оценка состава микрофлоры влагалища по отношению к общему количеству микроорганизмов и количеству лактобацилл. Абсолютные и относительные показатели рассчитывались с помощью программного обеспечения приборов для ПЦР РВ (ДТ96) на основании номера «порогового» цикла, на котором прибор начинал регистрировать положительную реакцию: чем больше количество микроорганизмов присутствовало в биопробе, тем

раньше наступал «пороговый» цикл. Количество ДНК микроорганизма в образце выражали в геном-эквивалентах, которое пропорционально количеству микроорганизмов. Показателем адекватности получения биоматериала является достаточное количество геномной ДНК человека в пробе, источником которой являются эпителиальные клетки, попадающие в пробу при правильной технике взятия биоматериала. Относительное количество микрофлоры представлено разницей десятичных логарифмов количества соответствующей группы микроорганизмов и общей бактериальной массы. Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы соответствовали Методическим указаниям МУ 1.3. 2569 -09.

Статистическая обработка результатов исследования

Статистический анализ полученных результатов, представленных как среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (σ), стандартная ошибка (m), проведен с помощью параметрических методов описательной статистики с использованием пакета прикладных программ Stat Soft Statistica 6,1 (Реброва О.Ю., 2006). Для выявления различий в исследуемых группах применялся параметрический t-критерий Стьюдента. Критическое значение t-критерия Стьюдента равнялось 1,977 при уровне значимости $\alpha = 0,05$, что является общепринятым в медико-биологических исследованиях. Для анализа таблиц сопряженности использовали метод Фишера (Дубина И.Н., 2006; Реброва О.Ю., 2006).

Сравнения распределений признаков двух выборок проверялось по критериям T-теста Манна-Уитни, согласия Пирсона в программе STATISTICA 6.0. Взаимосвязи различных переменных изучали с помощью корреляционного анализа (вычисляли коэффициент корреляции r с помощью встроенной функции в Excel). В литературе по математической статистике зависимость между изучаемыми объектами существует, если $r \geq 0,7$. Однако, в медицинских экспериментах r зачастую меньше 0,7, поэтому достоверность различий (значимость коэффициента корреляции r) в динамике лечения и между различными группами больных оценивали по t-критерию Стьюдента со степенью свободы $(n-2)$ (n – количество обследованных) и уровнем значимости p . Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$ или при степени доверительной вероятности 95% и выше (Углов Б.А. с соавт., 1994).

Для категориальных переменных строили таблицы сопряженности и применяли Хи-квадрат (χ^2). При частотах меньше 10 использовали χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. При ожидаемых частотах меньше 5 дополнительно использовали двусторонний точный критерий Фишера.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

1. Особенности нарушения колонизационной резистентности слизистой оболочки влагалища определением пула лактобактерий у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом

Нами обследовано 320 женщин, обратившихся в женскую консультацию ГУЗ «Клинический родильный дом №2» г. Волгограда в период с декабря 2014

по декабрь 2016 года с жалобами на обильные выделения из половых путей. Диагноз «хронический рецидивирующий бактериальный вагиноз» был выставлен 107 пациентам.

У всех пациенток в анамнезе имели место эпизоды бактериального вагиноза, которые рецидивировали 2-3 раза в год. Из анамнеза заболевания установлено, что подавляющая часть обследованных, посещавших врача гинеколога в периоды появления клинической симптоматики БВ, отмечала применение противомикробных препаратов с антианаэробным действием (трихопол, метронидазол, клиндамицин) на 1-м этапе и пробиотиков на 2-м этапе лечения (бифидумбактерин, ацилакт и др.). В среднем межрецидивные промежутки составляли 3,8-4,2 месяца.

Приведенный факт согласуется с данными литературы, которые подтверждают возможность рецидивирования заболевания уже через 3 месяца после лечения (Березовская Е.С. с соавт., 2013; Межевитинова Е.А. с соавт., 2014; Пустотина О.А., 2015).

По мнению Е.Ф. Кира (2013) высокоспецифичными маркерами БВ, имеющими высокую диагностическую ценность, являются *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*, а также их сочетание с условно-патогенными и патогенными микроорганизмами.

Результаты наших исследований показали, что у обследованных пациенток главным образом обнаруживались ассоциации микроорганизмов, характерные для БВ. Наиболее частыми из них (более 80%) явились: *Gardnerella vaginalis*+*Prevotella*; *Megasphaera spp.*+*Veilinella spp.*, *Eubacterium spp.* и *Atopobium vaginae*. Степень обсемененности ими влажной биотопы составила $>10^4$ КОЕ/мл, что необходимо расценивать как массивный рост бактерий. Важно отметить, что интенсивность роста *Atopobium vaginae* $>10^4$ КОЕ/мл имела место лишь у каждой 2-ой обследованной ($p>0,05$). Более чем у половины пациенток наличие БВ сопровождалось массивным ростом *Peptostreptococcus spp.*, *Mobiluncus spp.*+*Corynebacterium spp.* и *Enterobacterium spp.*

Преобладание в биоценозе лактобактерий, обеспечивающих кислую среду, является важной составляющей колонизационной резистентности слизистой оболочки влагалища. Данное равновесие носит непостоянный характер из-за слабых адгезивных свойств лактобактерий, не способных оказывать сопротивление патогенной микрофлоре (Подзолкова Н.М., Никитина Т.И., 2012; Easmon C. et al., 2016).

По результатам наших исследований, лактобактерии были выделены практически у всех обследованных с БВ, однако при норме 10^{7-9} КОЕ/мл у трети пациенток их количество не превышало 10^5 КОЕ/мл, а у каждой пятой – менее 10^4 КОЕ/мл. У 9 пациенток (8,4%) лактобактерии отсутствовали.

Таким образом, нормальная концентрация лактобактерий была отмечена лишь у 17,9% пациенток, а дефицит лактобактерий обнаружен практически у всех обследованных.

Научно-практическое значение полученных данных заключается в подтверждении нарушения колонизационной резистентности слизистой

влагалища, важной составляющей которой является низкая концентрация лактобактерий, служащая одним из основных факторов рецидивирования БВ. Данный факт обуславливает необходимость разработки способов повышения колонизационной резистентности слизистой оболочки влагалищного биотопа не столько за счет экзогенного введения лактобактерий, сколько путем восстановления способности к размножению собственного пула и формирования устойчивых к патогенной флоре ассоциаций лактобактерий с непатогенными микроорганизмами (Ventolini G. et al., 2015).

2. Результаты восстановления микрофлоры влагалища в группе сравнения

На втором этапе лечения пациентки группы сравнения получали пробиотик, содержащий 341 мг лактобактерий вида *Lactobacillus casei rhamnosus Doderleini LCR35* по 1 капсуле интравагинально 1 раз в день в течение 14 дней. Результаты всего комплекса лечения оценивались после 2-го этапа, а также через 6 и 12 месяцев после лечения.

После завершения 2-го этапа лечения клинические симптомы отсутствовали у пациенток в 100% случаев. Однако, через 6 месяцев такие клинические симптомы БВ, как выделения, «рыбный» запах и диспареуния наблюдались у каждой 3-й пациентки. Через 12 месяцев число пациенток с рецидивом возросло вдвое в сравнении с результатами, полученными через 6 месяцев после лечения ($p < 0,05$).

Характер изменения кислотности влагалища представлен в таблице 1.

Таблица 1.

Характер изменения pH в группе сравнения до и после лечения

Значение pH	I группа (сравнения) n=51							
	До лечения		После лечения					
			После 2-го этапа		Через 6 месяцев		Через 12 месяцев	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
pH 4.0	0	0	10	19,6***	6	11,7***	3	5,9***
pH 4.5	23	45,1	41	80,4	25	49,1	16	31,4
pH 5.0	28	54,9***	0	0	20	39,2	32	62,7

Примечание:

Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

* - достоверные различия внутри группы до и после лечения (***) ($p < 0,001$)

Нормативные значения pH=4.0 после 2-го этапа лечения появились у каждой 5-й пациентки. Частота пограничных значений pH=4.5 повысилась в 1,8 раза. Однако, через 6 месяцев после лечения отмечалось ухудшение показателей, характеризующееся появлением патологических значений pH=5.0 у каждой 2-й пациентки группы сравнения, а через 12 месяцев – в 1,5 раза чаще.

Результаты исследования микробного пейзажа после 2-го этапа лечения характеризовались полным отсутствием факультативных аэробов и практически полным отсутствием БВ-ассоциированных микроорганизмов в

отделяемом цервикального канала ($p < 0,001$). Однако, через 6 месяцев их количество увеличилось в 4 раза ($p < 0,001$), а через 12 месяцев – практически приблизилось к исходным до лечения данным. Более того, в каждом 2-м случае отмечался массивный рост колоний бактерий ($> 10^4$ КОЕ/мл).

Уровень лактобактерий после 2-го этапа лечения находился в пределах нормативных значений лишь в 4-х случаях. Кроме того, у каждой 2-й пациентки группы сравнения (41,2%) имел место дефицит лактобактерий, соответствующий диапазону значений $10^{4.0}$ - $10^{5.9}$ КОЕ/мл. В отдаленном периоде частота встречаемости нормальной концентрации лактобацилл повысилась в 8 раз в сравнении с результатами после 2-го этапа ($p < 0,001$). Однако эффект оказался неустойчивым и через 12 месяцев вновь наблюдалось уменьшение пула лактобактерий, а нормативные значения стали встречаться в 2,2 раза реже ($p < 0,05$).

Характер изменения концентрации лактобактерий представлен в таблице 2.

Таблица 2.

Изменение концентрации лактобактерий в группе сравнения

Концентрация лактобактерий	I группа (сравнения) n=51							
	До лечения		После 2-го этапа		Через 6 месяцев		Через 12 месяцев	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
10^7 - 10^9 КОЕ/мл	9	17,9	4	7,84*	34	66,7***,^^ ^	15	29,4^
$10^{6.0}$ - $10^{6.9}$ КОЕ/мл	21	41,2	26	50,9	11	21,5^	25	49^
$10^{5.0}$ - $10^{5.9}$ КОЕ/мл	17	33,4	13	25,5	6	11,8**,^^	6	11,8**
$10^{4.0}$ - $10^{4.9}$ КОЕ/мл	-	-	8	15,68***	-	-	5	9,8***
Не выявлено лактобацилл	4	7,8***	-	-	-	-	-	-

Примечание:

Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

- достоверные различия в группе до и после лечения (- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$)

^-достоверные различия в группе в динамике после лечения (^- $p < 0,05$; ^^- $p < 0,01$; ^^^- $p < 0,001$)

Концентрация лактобактерий после 2-го этапа лечения повысилась у всех пациенток, но при этом их количество оставалось почти на 2 порядка ниже нормативных значений ($10^{4.82}$ КОЕ/мл), а частота нормальной концентрации лактобактерий стала вдвое меньше в сравнении с исходными данными (17,7% и 7,8% соответственно). Через 6 месяцев наблюдалось увеличение содержания лактобактерий до нормативных значений более, чем у каждой 2-й пациентки (66,7%). Через 12 месяцев прослеживалась явная тенденция к их снижению – в 2,2 раза ($p < 0,05$). Критерии Ньюджента соответствовали 7 баллам у 70,6% пациенток за счет снижения числа морфотипов лактобацилл и роста числа морфотипов *Gardnerella vaginalis* и *Mobiluncus spp.*, свидетельствующих о бактериальном вагинозе.

Таким образом, результаты наблюдений в группе сравнения свидетельствовали о неполном устранении патологических изменений в микробиоценозе влагалища после использования пробиотика. Причем,

колониционная резистентность слизистой влагалища, определяемая главным образом численностью лактобацилл, постепенно снижалась на протяжении года, о чем свидетельствовало уменьшение их концентрации во влагалищном биотопе и замещение БВ- ассоциированной флорой.

3. Обоснование использования природных факторов озера Эльтон в лечении БВ

Основным лечебным фактором озера Эльтон является иловая сильносульфидная соленасыщенная бромная грязь, бальнеологическая ценность которой обусловлена значительным содержанием сульфидов железа, водорастворимых солей и относительно малым количеством органических веществ. Общая минерализация грязи составляет в среднем 347,6103 г/л. Грязь обладает выраженным противовоспалительным действием за счет коллоидного комплекса – гидрата окиси алюминия и железа, коллоидной кремневой кислоты, гумусовых веществ и органических коллоидов. Лечебные свойства грязи озера Эльтон обусловлены особым химическим составом, включающим высокое содержание солей магния и наличием биологических компонентов в виде гормоноподобных веществ, ферментов, витаминов и природных антибиотиков (Симонян А.В., 2008).

Вторым лечебным средством является рапа – крепкий рассол хлоридно-магниевно-натриевого состава. Высокое содержание солей, особенно бишофита, биологически активных веществ, бора, брома и сероводорода объясняет бальнеологическую ценность рапы.

Целесообразность использования лечебной грязи и рапы с целью восстановления микрофлоры вагинального биотопа и профилактики рецидивирования заболевания у пациенток с БВ, на наш взгляд, обусловлена несколькими аспектами.

А. Химические свойства грязи обеспечиваются содержанием большого количества сульфидных групп, обладающих антисептическим действием. Благодаря своему химическому составу грязь улучшает микроциркуляцию крови и, следовательно, все обменные процессы в слизистых оболочках (Симонян А.В., 2008).

Б. Биофизический эффект тепловых процедур в виде влагалищных грязевых тампонов состоит в улучшении микроциркуляции и лимфообращения в слизистой, что приводит к активации процессов обмена веществ в ней, и, следовательно, улучшению тканевого дыхания, стимуляции процессов регенерации (Гнутова С.В., 2009; Радзинский В.Е., 2011). Имея большую теплопроводность, рапа способствует улучшению кровотока в слизистой оболочке, улучшая диффузию микроэлементов в ткани, тем самым укрепляя местный иммунитет и повышая регенеративные способности вагинального биотопа. Можно предположить, что таким образом создаются оптимальные условия для роста собственных лактобактерий во влагалищном биотопе.

В. Биохимический эффект рапы обеспечивается высокой концентрацией солей, особенно бишофита, а также биологически активных микроэлементов: брома, бора, сероводорода, сернокислого кальция, хлористого натрия,

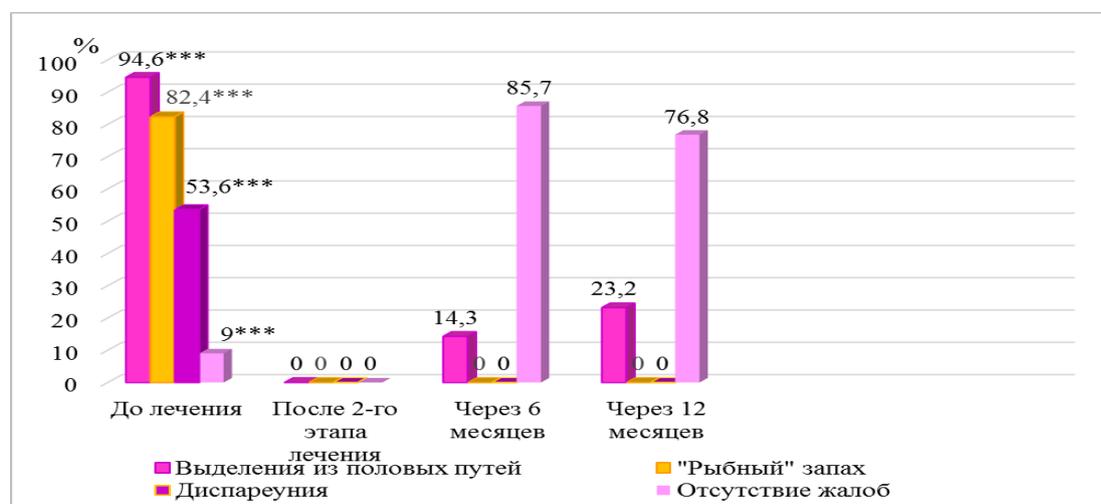
хлористого и серного магния и др., оказывающих противовоспалительное и антибактериальное действие. Ранее установлено, что бальнеологические природные факторы достоверно способствуют подавлению уровня условно-патогенных бактерий и повышению концентрации лактобактерий на 2 порядка (Власов С. В., 2005).

Г. Иммуномодулирующее действие обусловлено оптимальной комбинацией минеральных солей, микроэлементов и органических веществ, входящих в их состав, способствующей нормализации микробного баланса за счет активации адаптационных механизмов, восстановления местной иммунной защиты и бактерицидных свойств (Царькова М.А., 2014).

С целью восстановления микробиоценоза влагалищного биотопа на 2-м этапе лечения всем пациенткам основной группы назначались влагалищные тампоны с лечебной грязью озера Эльтон с последующим орошением влагалища рапой.

4. Результаты применения бальнеотерапии у пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом

В основной группе через 6 и 12 месяцев после лечения жалобы возобновились менее чем у четверти больных, причем касались только одного симптома – обильных выделений. Сравнительная характеристика клинических симптомов пациенток основной группы после лечения иллюстрирует рисунок 2.



Примечание:

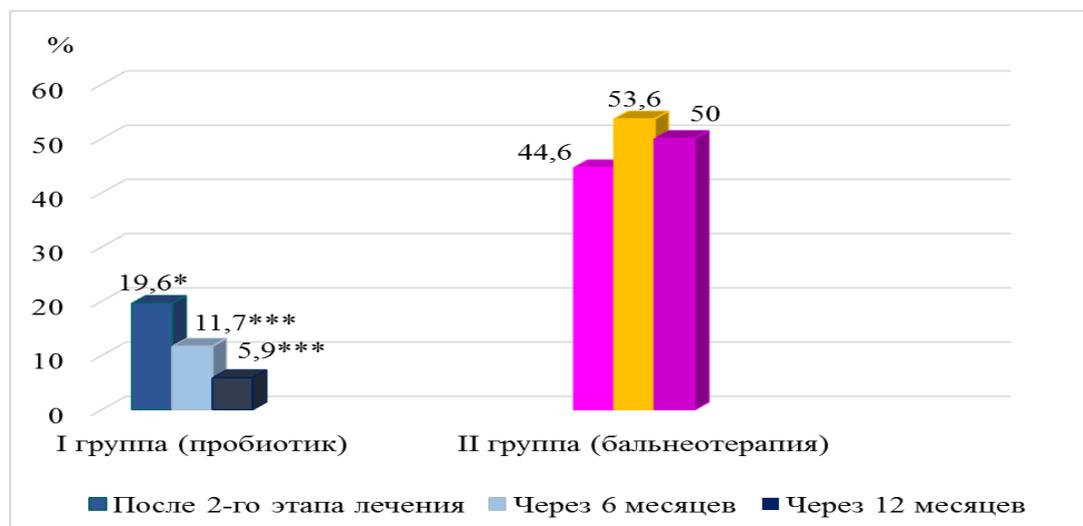
Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

* - достоверные различия частоты встречаемости симптомов до и после лечения (***- $p < 0,001$)

Рисунок 2. Клиническая симптоматика в основной группе до и после лечения

Нормативные значения кислотности рН=4.0 через 6 месяцев после 2-го этапа лечения в основной группе встречались в 4,5 раз чаще, чем в группе сравнения (53,6% и 11,7% пациенток соответственно; $p < 0,001$), через 12 месяцев – в 8 раз (рис. 3). Причем медиана рН в основной группе была ниже на 0,5 единиц через 6 месяцев ($4,32 \pm 0,5$ и $4,82 \pm 0,31$; $p < 0,05$), через 12 месяцев на

1,2 единицы по сравнению со средним показателем группы сравнения ($4,11 \pm 0,53$ и $5,32 \pm 0,34$; $p < 0,01$).



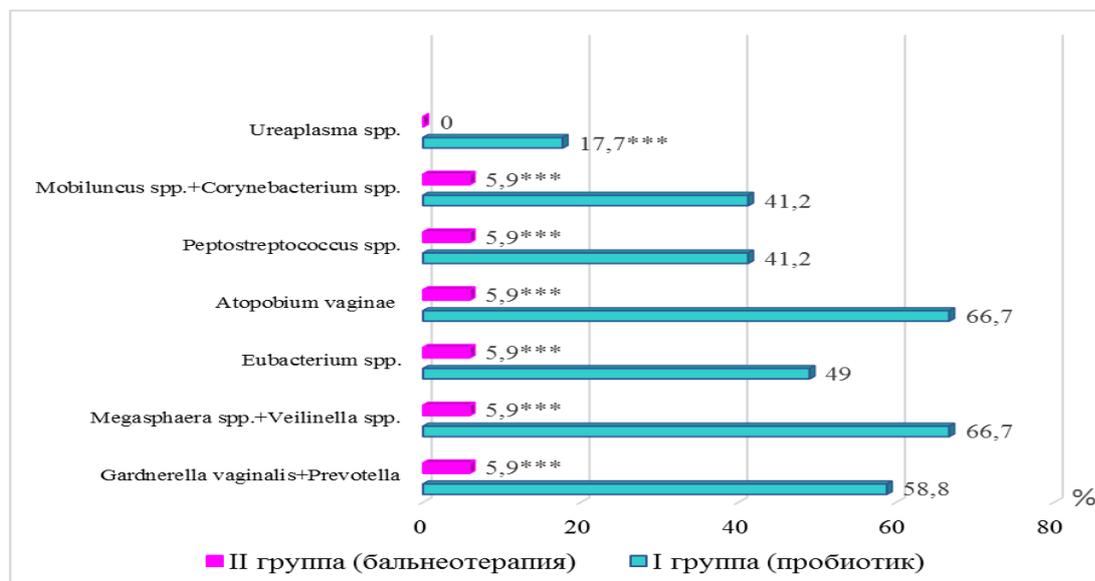
Примечание:

Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

* - достоверные различия между группами (*- $p < 0,05$; ****- $p < 0,001$)

Рисунок 3. Частота встречаемости нормального значения pH=4.0 в группах после лечения

В видовом спектре микроорганизмов после 2-го этапа лечения (рис. 4, 5) не обнаруживались аэробы и практически отсутствовали анаэробы, различия в частоте встречаемости LCR35 которых не имели статистической значимости ($p > 0,05$).

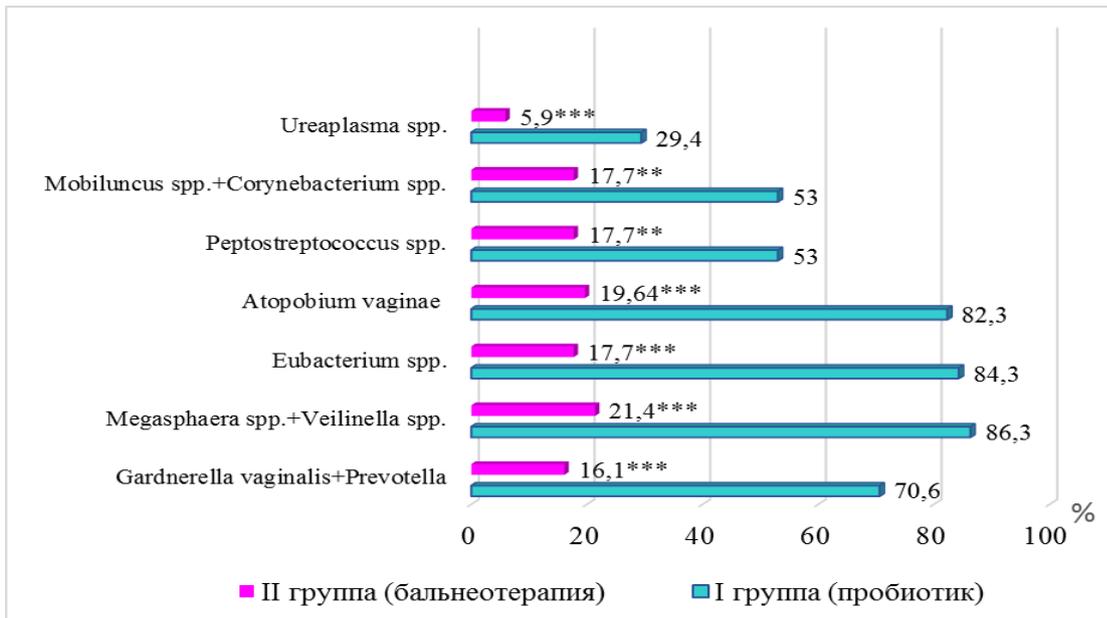


Примечание:

Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

* - достоверные различия между группами (****- $p < 0,001$)

Рисунок 4. Сравнительная характеристика микробного пейзажа в группах через 6 месяцев после лечения



Примечание:

Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

* - достоверные различия между группами (**- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$)

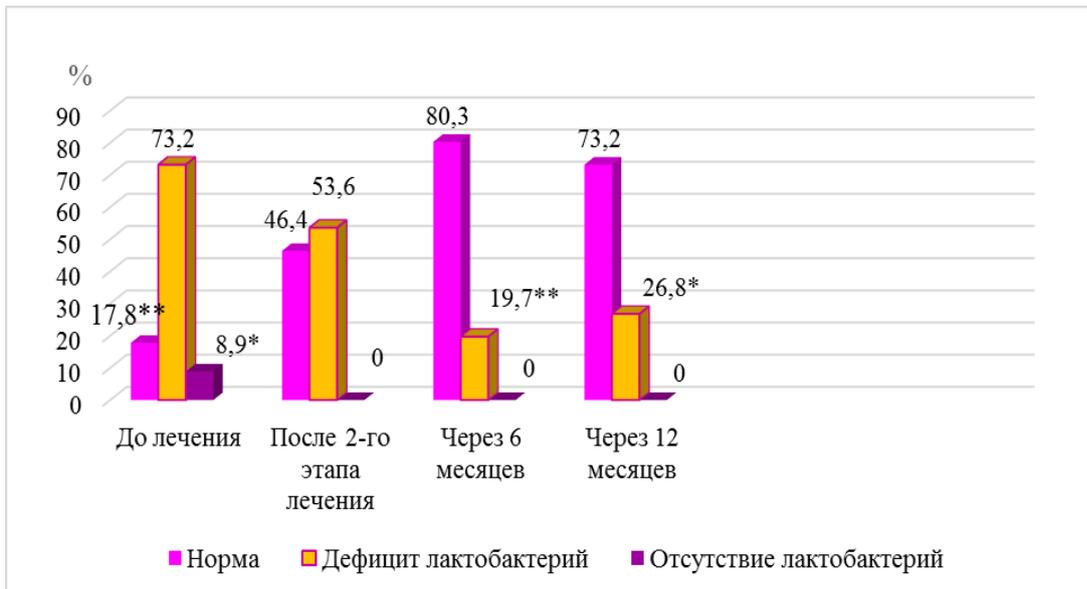
Рисунок 5. Сравнительная характеристика микробного пейзажа в группах через 12 месяцев после лечения

Сравнивая бактериальный спектр вагинального биотопа в группах в отдаленном периоде, отмечено заметное преобладание микроорганизмов в группе сравнения. Так, через 6 месяцев *Atopobium vaginae* у этих пациенток выявлялась в 11 раз, а *Gardnerella vaginalis* – в 10 раз чаще по сравнению с пациентками основной группы ($p < 0,001$).

Через 12 месяцев различия между группами по-прежнему сохраняли статистически достоверную разницу и характеризовались повышением в группе сравнения частоты встречаемости *Atopobium vaginae* в 4,2 раза, *Gardnerella vaginalis* – в 4,4 раза относительно пациенток основной группы ($p < 0,001$).

Несмотря на уменьшение частоты клинических симптомов заболевания в обеих группах, у пациенток основной группы в отдаленном периоде БВ-ассоциированные микроорганизмы были выявлены в 5 раз реже, чем в группе сравнения ($p < 0,001$), а случаев увеличения содержания БВ-ассоциантов не отмечалось.

В основной группе результаты 2-го этапа лечения были значительно лучше и характеризовались нормальным содержанием лактобактерий в каждом 2-м случае, что в 6 раз чаще, чем в группе сравнения (46,4% и 7,8%; $p < 0,001$). Кроме того, в основной группе нижняя граница количественного содержания лактобактерий равнялась $10^{5.3}$ КОЕ/мл, в то время как в группе сравнения на 1 порядок меньше ($10^{4.3}$ КОЕ/мл; $p < 0,001$) (рис. 6).



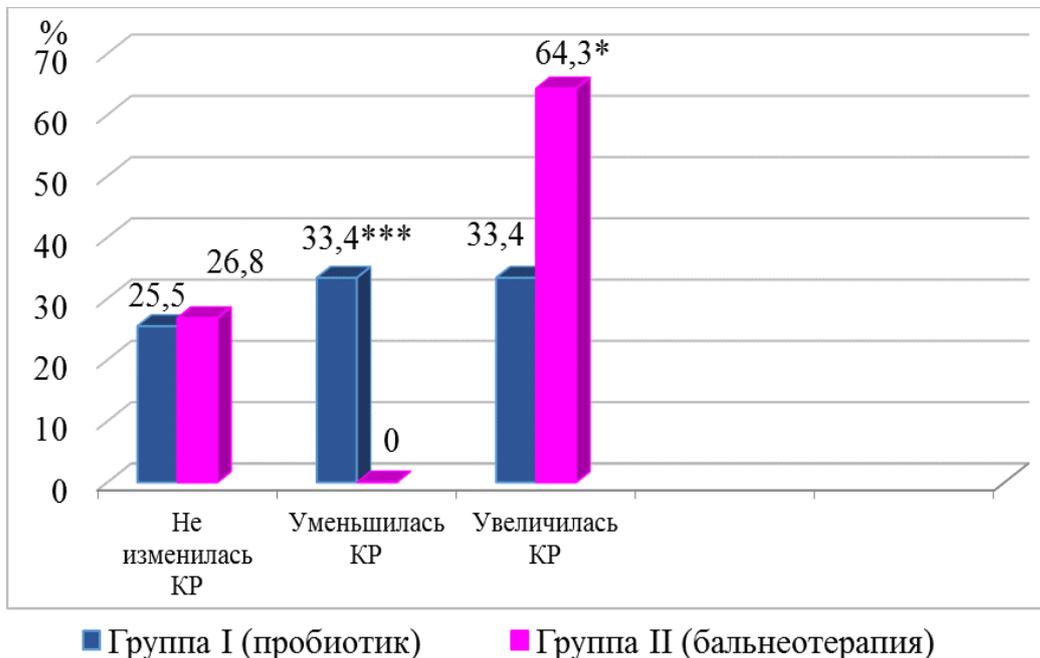
Примечание:

Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

* - достоверные различия внутри группы до и после лечения (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$)

Рисунок 6. Концентрация лактобактерий в основной группе в динамике лечения

Колонизационная резистентность слизистой оболочки влагалищного биотопа, характеризующаяся динамикой численности лактобактерий, в отдаленном периоде наблюдения представлена на рисунке 7.



Примечание:

Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

* - достоверные различия между группами (*- $p < 0,05$; ***- $p < 0,001$)

Рисунок 7. Характер изменения КР влагалищного биотопа в виде динамического изменения численности лактобактерий в группах через 12 месяцев после лечения

Таким образом, в группе сравнения после лечения в отдаленном периоде КР влагалища, определяемая главным образом концентрацией лактобактерий, увеличивалась в каждом 3-м случае, в то время как в основной группе результаты были в 2 раза лучше ($p < 0,05$). Необходимо подчеркнуть, что средняя концентрация лактобактерий в группе сравнения так же почти на 2 порядка была ниже, чем у пациенток основной группы ($10^{4,82}$ КОЕ/мл против $10^{6,54}$ КОЕ/мл; $p < 0,001$). Данные результаты нашли подтверждение в критериях Ньюджента, оцененных в 2 балла и соответствующих росту морфотипов лактобактерий в 4,5 раза ($p < 0,001$), снижению частоты обнаружения *Gardnerella vaginalis* в 5,6 раза ($p < 0,001$), а *Mobiluncus spp.* – в 3 раза ($p < 0,01$) через 12 месяцев после лечения относительно показателей, полученных до лечения.

Численность пациенток с нормальной концентрацией лактобактерий в группах в динамике лечения представлена на рисунке 8.



Примечание:

Достоверность рассчитана по критерию χ^2 :

* - достоверные различия между группами ($*-p < 0,05$; $***-p < 0,001$)

Рисунок 8. Число пациенток с нормальной концентрацией лактобактерий в группах после лечения, %

Сравнительный анализ показал, что в основной группе имеет место устойчивое увеличение числа пациенток с нормальной концентрацией лактобактерий (10^{7-9} КОЕ/мл), в то время как в группе сравнения динамика процесса напоминает синусоиду с нисходящей ветвью к концу периода наблюдения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненной работы установлено, что естественные бальнеологические факторы озера Эльтон, используемые на втором этапе лечения пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом способствуют достоверному снижению числа рецидивов заболевания в течение одного года после проведенного лечения. Этот результат объясняется тем, что под влиянием бальнеологических процедур во влагалищном биотопе создаются благоприятные условия для роста и размножения собственных лактобактерий. Кроме того, наряду с увеличением концентрации лактобактерий выявлено достоверное снижение представительства БВ-ассоциированной микрофлоры, что в совокупности свидетельствует о повышении колонизационной резистентности слизистой оболочки влагалищного биотопа за счет собственных лактобактерий.

Результаты работы дают основание сделать следующие **выводы**:

1. Колонизационная резистентность влагалищного биотопа, основным показателем которой служит нормальная концентрация лактобактерий, у женщин с рецидивирующим течением бактериального вагиноза через 6 и 12 месяцев после 2-х этапного общепринятого лечения снижается на 33,3% и 70,6% соответственно.
2. В микробиологическом спектре влагалищной ниши через год после общепринятого лечения вновь преобладали *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella spp.* и др. БВ-ассоциированные анаэробы, что обусловило рецидив симптомов бактериального вагиноза у 80,4% пациенток группы сравнения.
3. Применение грязи и рапы озера Эльтон на 2-м этапе лечения пациенток с бактериальным вагинозом обеспечило ремиссию заболевания у 85,7% пациенток через 6 и у 76,8% через 12 месяцев, сопровождающуюся снижением рН влагалищного секрета до нормальных значений.
4. Использование природных бальнеологических факторов в основной группе через 12 месяцев обеспечило увеличение представительства лактобактерий в вагинальном биотопе в 2,5 раза ($p < 0,05$) относительно группы сравнения (73,2% и 29,4% соответственно). Данный факт нашел подтверждение в снижении количества баллов по критериям Ньюджента с 7-10 до 2 баллов за счет роста числа морфотипов лактобацилл и подавления численности морфотипов БВ-ассоциированных бактерий.
5. После проведения бальнеотерапии на 2-м этапе лечения пациенток с бактериальным вагинозом эпизодов подавления роста лактофлоры не наблюдалось, что наряду с увеличением пула собственных лактобактерий свидетельствует об устойчивой колонизационной резистентности влагалищного биотопа.

Полученные выводы позволяют сделать следующие **практические рекомендации:**

1. Пациенткам с рецидивирующим течением бактериального вагиноза рекомендуется проводить двухэтапную терапию. На первом этапе назначаются антианаэробные препараты, а при сочетании с неспецифическим вагинитом – препараты широкого спектра действия, в течение 7 дней с учетом результатов микробиологического исследования по определению чувствительности выявленной условно-патогенной микрофлоры. Аналогичное лечение следует рекомендовать половому партнеру.
2. На втором этапе, который следует за первым без перерыва, с целью восстановления пула собственных лактобактерий рекомендуется проведение бальнеотерапии природными лечебными факторами озера Эльтон в виде введения *per vaginam* грязевых тампонов объемом 10 мл и температурой 40 °С, продолжительностью сеанса начиная от 10 минут, увеличивая время экспозиции на 10 минут с каждой процедурой до 30 минут. После удаления тампона влагалище орошается рапой, разведенной подогретой до 38-40°С дистиллированной водой в соотношении 1:10.
3. Процедуры проводятся ежедневно или через день в межменструальный период. После процедуры рекомендуется 30-минутный отдых, употребление фиточая. Количество процедур на курс – 10-12.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в том, что для повышения эффективности противорецидивного лечения бактериального вагиноза важной является разработка методов комбинированного лечебно-профилактического воздействия на биоценоз не только влагалищной ниши, но и кишечника, состояние которого оказывает соответствующее влияние на микробиологический спектр всего организма человека. В этом отношении нелекарственные методы в сочетании с нутритивной поддержкой позволят решить эту задачу.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бактериальный вагиноз и репродуктивное здоровье женщин / Н.А. Жаркин, В.С. Замараев, Т.Н. Савченко, О.И. Марушкина, **Ван Нань** // – **Медицинский альманах**, - 2015. - №4(39). – С. 84 - 86.
2. Balneotherapy in comprehensive bacterial vaginosis treatment/Nikolay Zharkin, Olga Marushkina, **Van Njan** // *European Journal Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*, November 2016, vol.206, e 126.
3. Отдаленные результаты применения пробиотиков и бальнеотерапии в комплексном лечении бактериального вагиноза. Сравнительное исследование / О.И. Марушкина, Н.А. Жаркин, **Ван Нань** // **Вестник**

Волгоградского государственного медицинского университета, - 2017. - №1. - С. 74 – 77.

4. Бактериальный вагиноз: новые возможности терапии/ **Ван Нань** [и др.] // Тез. доклада на XXIII-м международном конгрессе «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья», Москва, - 2017 г.
5. Бальнеотерапия в комплексном лечении бактериального вагиноза / **Ван Нань** [и др.] // Материалы Международной конференции прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины». Астрахань, - 2016. - С. 95.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

КР – колонизационная резистентность

НП – неспецифический вагинит

БВ – бактериальный вагиноз

УПМ – условно-патогенные микроорганизмы

КОЕ – колониеобразующая единица

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза