

А. Д. Шульженко, Э. И. Крутикова, Г. А. Петрушанко, А. И. Островская
ВГУЗ Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ НА НАЛИЧИЕ ЛЕТУЧИХ АМИНОВ У ЖЕНЩИН С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ВАГИНОЗОМ

e-mail: adkrutikova@gmail.com

Обследовано 72 женщины возраста 18-45 лет, у которых изучались стоматологический и гинекологический статусы. БВ диагностировали акушеры-гинекологи. Проведена клиническая диагностика состояния полости рта обследованных. Определяли наличие *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* методом ПЦР в полости рта и влагалище. Разработан и запатентован аминок-тест ротовой жидкости при БВ. У всех пациенток с БВ диагностированы воспалительные и воспалительно-дистрофические заболевания пародонта. Показатели аминок-теста ротовой жидкости положительны у 100% пациенток с БВ. Аминок-тест следует считать эффективным методом экспресс-диагностики наличия в полости рта возбудителей бактериального вагиноза.

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, гингивит, пародонтит, аминок-тест.

Робота являється фрагментом ННР «Механізми впливу хвороботворних факторів на стоматологічний статус осіб із соматичною патологією, шляхи їх корекції та блокування», ДР № 0115U001138.

Перекрестное инфицирование открытых полостей человеческого организма продолжает оставаться недостаточно изученным вопросом в современной медицине. На сегодняшний день отсутствуют практические рекомендации по тактике ведения стоматологических пациентов с дисбиозом уrogenетального тракта. Одним из самых распространенных и рецидивирующих является бактериальный вагиноз (БВ), который встречается у женщин репродуктивного возраста в 67-89% [5]. Согласно ВОЗ бактериальный вагиноз – полимикробное дисбиотическое невоспалительное заболевание, при котором видовой и количественный вектор микрофлоры влагалища смещен в сторону строгих анаэробных микроорганизмов [2]. Диагноз БВ регистрируется акушером-гинекологом на основании наличия у пациентки проявлений, получивших название критериев Амсея (1983): длительные обильные жидкие гомогенные беловато-серые вагинальные выделения с неприятным запахом, положительный результат аминок-пробы, превышение pH вагинального секрета более 4,5, при микроскопическом исследовании соскоба из влагалища - отсутствие лейкоцитарной реакции, уменьшение лактобацилл и наличие «ключевых клеток» [4]. Одними из основных микроорганизмов, с которыми связано развитие БВ, являются *Gardnerella vaginalis* - факультативный анаэроб (в малом количестве может быть представителем микробиоценоза влагалища, как условно-патогенный микроорганизм), а так же *Atopobium vaginae* (встречается реже, но именно его наличие приводит к частым рецидивам данного заболевания) [7]. Оба микроорганизма идентифицируют в секрете влагалища методом ПЦР у 60-90% женщин при верифицированном диагнозе БВ [10]. Благоприятными факторами, способствующими их жизнедеятельности, являются слабо кислая или щелочная среда, а так же полость, покрытая сквамозным плоским эпителием, что характерно, как для полости рта, так и для влагалища. Учитывая высокую частоту БВ среди женщин репродуктивного возраста, а так же высокую распространенность заболеваний пародонта, целесообразно проанализировать взаимосвязи у них стоматологического и гинекологического статусов, а так же выявить маркеры развития данных заболеваний для оптимизации тактики ведения указанных пациентов врачом-стоматологом.

Целью работы была разработка экспресс-диагностики наличия летучих аминов в полости рта женщин с бактериальным вагинозом.

Материал и методы исследования. Обследовано общепринятыми стоматологическими и гинекологическими методами 72 женщины репродуктивного возраста (18-45 лет), без тяжелой соматической патологии, у которых изучались стоматологический и гинекологический статусы. БВ диагностировали акушеры-гинекологи на основании положительных критериев Амсея (маркерах бактериального вагиноза). С учетом результатов гинекологической диагностики было выделено 3 группы: I-ю составили 38 женщин с БВ, во II-ю включили 14 носителей *Gardnerella vaginalis* без бактериального вагиноза и III-я (контрольная) сформирована из 20 женщин с I и II степенью чистоты влагалища. Проведена клиническая и параклиническая диагностика состояния полости рта с определением уровня гигиены по индексу Грина-Вермильона, показателей индексов РМА по Парма, комплексного пародонтального индекса по Леусу (КПИ), пробы Писарева-Шиллера, числа Свракова [9]. При наличии изменений со стороны пародонта дополнительно выполнялось рентгенологическое

обследование челюстей. Диагноз пародонтологического заболевания формулировали согласно классификации Н.Ф.Данилевского (1994) [3].

Оценка влагалищной микрофлоры проводилась бактериоскопически, бактериологически и методом ПЦР, а так же с учетом критериев Амсея [2]. У женщин одновременно определяли наличие *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* методом ПЦР и в полости рта. В процессе микроскопического обследования выявляли наличие «ключевых клеток», представляющих собой спущенные клетки многослойного плоского эпителия с адгезированными на них коккобациллами (*Gardnerella vaginalis*) в различных количествах, являющиеся цитологическими маркерами бактериального вагиноза, количество *Gardnerella vaginalis*, лактобацилл, лейкоцитов. Количество микроорганизмов подсчитывалось в поле зрения при 100-кратном увеличении [10]. Проведен учет аминовой пробы влагалищного секрета [2]. Разработана, апробирована и запатентована собственная методика анализа состояния ротовой жидкости на наличие летучих аминов, характерных для развития вагинального бактериального вагиноза (патент Украины № 99694 от 25.06.2015) [6]. Так при помощи стоматологического шпателя выполнялся забор материала ротовой жидкости в виде соскоба с вестибулярной стороны слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти. Полученный биоматериал наносился на предметное стекло. Для выполнения амино-теста добавляли к капле исследуемой жидкости каплю 10% гидроксида калия. Положительный результат регистрировали при появлении характерного запаха «тухлой рыбы», что связано с выделением летучих аминов (путресцина, кадаверина, триметиламина, изонитрила), которые являются продуктом жизнедеятельности облигатных анаэробов [3]. Специфичность амино-теста оценивается в 82% [2]. рН ротовой и влагалищной жидкостей определялось с помощью бумажного теста А&D рН 0-14 (Япония). Акушерами-гинекологами была предоставлена информация о рН-метрии влагалищного секрета, рН ротовой жидкости проведено в ходе стоматологического обследования. Выполнены бактериоскопические исследования мазков со слизистой полости рта и влагалища, которые оценены с использованием критериев Ньюджента [8]. Полученные результаты обработаны методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Изучение пародонтологического статуса у женщин всех групп показало, что представительницы I группы имели хронические воспалительные или воспалительно-дистрофические заболевания пародонта. Степень тяжести выявленной патологии пародонта послужила основанием для распределения женщин указанной группы на подгруппы с целью дальнейшего более углубленного анализа заболеваемости. Подгруппу I-A составили пациентки с хроническим катаральным гингивитом (15 человек (41,6%)), I-B – с хроническим пародонтитом начальной степени (9 человек (24%)), I-B – с хроническим пародонтитом первой степени тяжести – (14 человек (34,4%)). У пациенток II и контрольной группы был обнаружен только хронический катаральный гингивит (9 человек (64,3%) и 11 человек (55%) соответственно). Результаты индексного анализа стоматологического статуса обследованных представлены в таблице 1.

Таблица 1

Индексный анализ стоматологического статуса обследованных женщин (M±m)

Индексы	I группа (38)			II группа (14)	III группа (20)
	I-A (15)	I-B (9)	I-B (14)		
ГИ, баллы	0,74±0,08*#	0,96±0,11*# p1<0,05	1,68±0,19*# p1<0,05 p2<0,05	1,60±0,18 #	0,67±0,07
РМА, %	61,1±6,30*#	72,6±7,60*# p1<0,05	88,4±9,1*# p1<0,05 p2<0,05	21,2±2,9	18,3±1,90
КПИ, баллы	0,09±0,01*#	0,72±0,08*# p1<0,05	1,26±0,14*# p1<0,05 p2<0,05	0,08±0,004#	0,07±0,005
Число Свра-кова	7,25±0,73*#	7,42±0,76*# p1>0,05	7,56±0,78*# p1>0,05 p2>0,05	2,26±0,24	2,11±0,23

Примечание: в скобках – количество обследованных женщин, * - достоверные отличия (p<0,05) в сопоставлении с показателями II группы, # - достоверные отличия (p<0,05) в сопоставлении с показателями III группы, p1 – достоверность показателей при сравнении между подгруппами I-A, I-B, I-B, p2 – достоверность показателей при сравнении между подгруппами I-B и I-B.

Анализируя данные пародонтологического обследования следует отметить параллелизм тяжести изменений гинекологического статуса. При сборе анамнеза была выявлена особенность, характерная только для женщин I группы: рецидив пародонтологических заболеваний происходил

одновременно с рецидивом бактериального вагиноза у 82% обследованных. У пациенток II и III групп обострения хронического катарального гингивита были связаны в основном с сезонностью [7].

Одним из критериев Амсея для подтверждения наличия у женщины бактериального вагиноза является pH влагалища выше 4,5, поскольку чем pH выше, тем благоприятнее среда для существования *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* (табл 2)

Таблица 2

Показатели pH-метрии ротовой жидкости и секрета влагалища женщин исследуемых групп (M±m)

Показатели	I группа (38)			II группа (14)	III группа (20)
	I-A (15)	I-B (9)	I-B (14)		
pH ротовой жидкости	7,05±0,82	6,88±0,79 p1>0,05	6,87±0,76 p1>0,05 p2>0,05	7,24±0,74	7,43±0,752
pH секрета влагалища	4,94±0,53#	5,3±0,62 # p1>0,05	5,61±0,37* p1>0,05 p2>0,05	4,20±0,48	3,09±0,41

Примечание: в скобках – количество обследованных женщин, * - достоверные отличия (p<0,05) в сопоставлении с показателями II группы, # - достоверные отличия (p<0,05) в сопоставлении с показателями III группы, p1 – достоверность показателей при сравнении между подгруппами I-A, I-B, I-B, p2 – достоверность показателей при сравнении между подгруппами I-B и I-B.

Следовательно, pH смешанной слюны женщин всех групп и влагалища у пациенток с бактериальным вагинозом являются благоприятным фактором для существования и размножения *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*. Результаты одновременного проведения ПЦР у пациенток всех групп влагалищного секрета и ротовой жидкости на выявление *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* засвидетельствовали, что у женщин I-й группы с верифицированным гинекологическим диагнозом БВ положительный результат ПЦР на *Gardnerella vaginalis* констатирован во влагалище в 97% наблюдений, в полости рта – в 91%, на *Atopobium vaginae* - в 82% и 78% соответственно. Во II-й группе обследованных наличие *Gardnerella vaginalis* во влагалище методом ПЦР зарегистрировано у 100%, что объясняется отбором пациенток для данной группы (*Gardnerella vaginalis* в небольшом количестве может быть составляющей частью биотопа влагалища в 30% случаев, при этом диагноз БВ гинекологом не выставляется). В полости рта у женщин II-й группы *Gardnerella vaginalis* методом ПЦР не выявлена. У них же возбудитель БВ *Atopobium vaginae* на основании ПЦР не констатирован ни в одной из исследуемых полостей. В контрольной группе (III-й) результаты ПЦР на *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* были отрицательны и во влагалище и в полости рта.

Одним из критериев Амсея (маркеров бактериального вагиноза) является амино-тест. Указанный показатель - один из простейших и доступных в получении, что объясняется возможностью выполнения амино-теста влагалищной жидкости без участия врача-лаборанта и готовностью результата к оценке в течение нескольких минут. Амино-тест ротовой жидкости обследованных женщин проводился также непосредственно врачом-стоматологом. В I группе показатели амино-теста ротовой и влагалищной жидкости подтвердили наличие летучих аминов у 100% обследованных. Во II и III группах аминокислотная проба отрицательна в полости рта и влагалище. Следовательно, амино-тест можно считать экспресс-методом диагностики наличия патогенного количества *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* в полости рта. Анализируя результаты амино-теста и ПЦР ротовой и влагалищной жидкостей, можно констатировать, что показатели ПЦР соответствуют результатам аминокислотной пробы. Таким образом амино-тест можно рассматривать как экспресс-диагностику наличия в полости рта нетипичных для ее микробиоты компонентов, таких как *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*. Сопоставляя данные pH с результатами амино-теста и ПЦР можно утверждать, что при перекрестном инфицировании *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* могут попадать в биотоп полости рта, что не является естественным для указанной микробиоты. Данные микроскопии изучаемых мазков жидких сред полости рта и влагалища показали, что «ключевые» клетки были обнаружены в обоих полостях только у пациенток с БВ. Повышенное количество лейкоцитов, как критерий воспалительной реакции, выявлено в мазках из полости рта только у женщин I группы (1/4-1/2 поля зрения), что подтверждает воспалительные и воспалительно-дистрофические заболевания, диагностированные в данной группе. Во влагалищных мазках I группы малое количество лейкоцитов (10-20) свидетельствовало об отсутствии воспалительной реакции во влагалище при бактериальном вагинозе. Количество *Gardnerella vaginalis*, согласно критериям Ньюджента, было достаточным для развития БВ в I-й группе пациенток (более 30) и не достаточным во II-й группе (1-4). В полости рта изучаемые возбудители были выявлены только у лиц I-й группы (в среднем от 5 до 30 в п/зр). В контрольной группе женщин в полости рта наблюдалась полимикробная картина с преобладанием кокковой микрофлоры, а во влагалище - палочковая микрофлора с большим

количеством лактобактерий (более 30). Таким образом, данные микроскопического исследования мазков из обеих полостей прямо коррелировали между собой, за исключением показателя лейкоцитарной реакции.

Дискуссия. Таким образом проблемы БВ и генерализованных воспалительных заболеваний пародонта тесно взаимосвязаны между собой и требуют дальнейшего глубокого изучения, поскольку согласно нашим исследованиям у всех пациенток с гинекологическим диагнозом БВ развиваются в полости рта генерализованные воспалительные и воспалительно-дистрофические поражения пародонта различной степени тяжести. *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*, являющиеся нетипичными представителями микрофлоры полости рта, обнаруживаются методом ПЦР при БВ как во влагалище, так и в полости рта. Впервые применен аминокислотный тест ротовой жидкости на наличие летучих аминов, которые выделяют возбудители БВ. Результативность методики подтверждена результатами ПЦР-диагностики.

Заключення

Аминокислотный тест ротовой жидкости, разработанный в процессе работы, можно считать эффективным методом экспресс-диагностики наличия в полости рта летучих аминов, которые выделяются в процессе жизнедеятельности возбудителей БВ. Аминокислотный тест можно считать экспресс-методом определения наличия в ротовой полости *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*. Считаем, что данное исследование необходимо проводить у женщин репродуктивного возраста при выявлении стоматологом у них воспалительных и воспалительно-дистрофических заболеваний пародонта. В случае его положительного результата следует направлять пациенток на консультацию к врачу-гинекологу для своевременной диагностики и лечения гинекологической патологии. В то же время гинекологи при постановке и верификации диагноза БВ должны рекомендовать женщине пройти стоматологическое обследование с целью первичной и вторичной профилактики болезней пародонта.

Список літератури

1. Volf GF, Rateytshak EM, Barera GM. Parodontologiya. Moskva: MEDpress-inform; 2008. 548 s.
2. Galich SR. Bakterialnyiy vaginoz. Zdorovya UkraYini. 2012 Grud 26; 4(8):40-2.
3. Danilevskiy NF, Borisenko AV. Zabolevaniya parodonta. Kiev: Zdorove; 2000. 464 s.
4. Kisina VI, Zabiroya KI. Urogenitalnyie infektsii u zhenschin: klinika, diagnostika, lechenie. Moskva: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2005. 280 s.
5. Kira EF. Bakterialnyiy vaginoz. Moskva: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2012. 472 s.
6. Petrushanko TA, Krutikava EI, Shulzhenko AD. Ukrainska medychna stomatolohichna akademiia, patentovlasnyk. Sposib ekspres-diahnostyky rotovoi ridyny na naiavnist letiuchykh aminiv u zhinok z bakterialnym vahinozom Patent Ukrainy № 99694. 2015 Cher 25.
7. Shulzhenko AD, Petrushanko TA, Krutikova EI. Sostoyanie tkaney parodonta u zhenschin s bakterialnym vaginozom. Georgian Medical News. 2014 Grud 17; 12(237). 24-8.
8. Gelber SE, Aguilar JL, Lewis KLT, Ratner AJ. Functional and phylogenetic characterization of vaginolysin, the human-specific cytolysin from *Gardnerella vaginalis*. J. Bacteriol. 2008 Mar 19; 2(59):141-3.
9. Mirmonsef P, Gilbert D, Zariffard MR et. al. The effects of commensal bacteria on innate immune responses in female genital tract. Am. J. Reprod. Immunol. 2011 Jan 22; 1(65): 190-5.
10. Yamamoto T. et.al. Bacterial Populations in the Vaginas of Healthy Adolescent Women. J. Pediatr. Adolesc. Gynecol. 2009 Jan 18; 1(22):11-8.

Реферати

ЕКСПРЕС-ДІАГНОСТИКА РОТОВОЇ РІДИНИ НА НАЯВНІСТЬ ЛЕТУЧИХ АМІНІВ У ЖІНОК З БАКТЕРІАЛЬНИМ ВАГІНОЗОМ

Шульженко А.Д., Крутікова Е.І., Петрушанко Т.О.,
Островська Л.І.

Обстежено 72 жінки віку 18-45 років, у яких вивчалися стоматологічний та гінекологічний статуси. БВ діагностували акушери-гінекологи. Проведена клінічна діагностика стану порожнини рота обстеження. Визначали наявність *Gardnerella vaginalis* і *Atopobium vaginae* методом ПЦР в порожнині рота і піхву. Розроблено та запатентовано аміно-тест ротової рідини при БВ. У всіх пациенток з БВ діагностовано запальні і запально-дистрофічні захворювання пародонту. Показники аміно-тесту ротової рідини позитивні у 100% пациенток з БВ. Аміно-тест слід вважати ефективним методом експрес-діагностики наявності в порожнині рота збудників бактеріального вагінозу.

Ключові слова: бактеріальний вагіноз, гінгівіт, пародонтит, аміно-тест.

EXPRESS DIAGNOSTICS OF ORAL FLUID FOR THE PRESENCE OF VOLATILE AMINES IN WOMEN WITH BACTERIAL VAGINOSIS

Shulzhenko A., Krutikova E., Petrushanko T., Ostrovska L.

72 women of the age of 18-45 years were studied, who studied the dental and gynecological statuses. BV was diagnosed by obstetrician-gynecologists. Clinical diagnosis of the condition of the oral cavity of the examined was carried out. The presence of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* was determined by the PCR method in the oral cavity and vagina. An amine oral fluid test with BV has been developed and patented. All patients with BV are diagnosed with inflammatory and inflammatory-dystrophic periodontal diseases. Indicators of oral amine oral test are positive in 100% of patients with BV. Amino-test should be considered an effective method of rapid diagnosis of the presence in the oral cavity of pathogens of bacterial vaginosis.

Key words: bacterial vaginosis, gingivitis, periodontitis, amino test.

Стаття надійшла 2.11.2017 р.

Рецензент Громова А.М.