

tectable by NcoI restriction of PCR product // Hum. Mol. Genet. – 1992. – Vol. 1, №5. – P. 353.

29. Wilton A.N., Cooper D.W. Pre-eclampsia and

HLA-DR4 // Lancet. – 1990. – Vol. 336, №8710. – P. 323.

УДК:618.15-008.87:618.17(5751)

## ОЦЕНКА МИКРОБИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА В УЗБЕКИСТАНЕ

Раимходжаева Н.С.<sup>1</sup>, Дё К.Г.<sup>1</sup>, Сабирзянова Л.Г.<sup>1,2</sup>, Каримова Ф.А.<sup>1,2</sup>, Акпербекова И.С.<sup>3</sup>, Хегай Т.Р.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и геномики человека АН РУз,

<sup>2</sup>Научно-диагностический центр «Immunogen test»,

<sup>3</sup>Кафедра акушерства и гинекологии Ташкентской медицинской академии

### ХУЛОСА

Репродуктив йошдаги (78 киши) айолларда вагинал микробиоценозни ўрганилди, ўртача йоши 34,5 + 2,3 йил таъкил этган 20 йошдан 46 йошгача бўлган ўзбек миллат гуруҳлари: 1-гуруҳ – вагинал касалликка чалинган айоллар (колпит ва Бактериал вагиноз) соғлом айолларга нисбатан. Вагинал оқинди микрофлорасини спектри Фемофлор-16 ва Фемофлор-дисплей реактивлари (НПО ДНК - Технология, Россия) йордамида Q-PCR усули билан баҳоланди. Вагинал микроорганизмларни интеграл баҳолаш учун Фемофлор формат диагностика тупланмаларидан фойдаланиш, Q-PCR орқали вагинал микробиоценозни ўрганиш репродуктив йошдаги айолларнинг қиннинг микробиол ҳолатини баҳолаш учун мақбул ва самарали васитасини курсатдик. Вагинал касалликнинг клиник белгиларига ега бўлган айолларда (колпит ва бактериал вагиноз) 2-гуруҳдаги айоллар билан солиштирилганда кўпроқ сезиларли даражада анаэроб дисбиози таъхис қўйилган. Вагинал флоранинг меъори *Lactobacillus spp* нинг йўқори микдори билан таъсифланади. (99,6%), мажбурий ва факультатив анаэроблар (<0,9%) бўлган ҳар бир гуруҳ вакилларининг нисбатан паст қўриниши кузатилди. Вагинал дизбиозни турли хил вариантлари мавжуд бўлган айолларнинг орасида *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.*, тузимини 41% микроорганизмлар таъкил этади.

**Кали сузлар:** вагинал микробиоценоз, нормоценоз, дисбиоз, шатрли патоген микроорганизмлар, «Фемофлор», ПЦР.

Несмотря на достижения в медицине, уровень заболеваемости различными инфекционно-воспалительными заболеваниями половой сферы не имеет тенденций к снижению. Следует отметить, что бессимптомное течение дисбиотических процессов является хорошей почвой для внезапного возникновения различных форм инфекционно-воспалительных заболеваний женской половой сферы в различные периоды жизни женщины. Учитыв-

### SUMMARY

A study of vaginal microbiocenosis in women (78 people) of reproductive age, Uzbek ethnicity, aged from 20 to 46 years, whose average age was 34.5 + 2.3 years: group 1 - women with vaginal diseases (colpitis and Bacterial vaginosis) and conditionally healthy women. The spectrum of the microflora of the vaginal discharge was evaluated by the Q-PCR method using Femoflor-16 and Femoflor-screen reagents (SPA DNA-Technology, Russia). We have shown that the study of vaginal microbiocenosis by Q-PCR using the Femoflor format diagnostic kits for integrated assessment of the vaginal microbial communities is an affordable and effective tool for assessing the microbial state of the vagina of women of reproductive age. In women with clinical signs of vaginal disease (colpitis and bacterial vaginosis), marked anaerobic dysbiosis was significantly more frequently diagnosed compared to women of the 2nd group.

Vaginal flora normocenosis is characterized by a high content of *Lactobacillus spp.* (99.6%), with a relatively low occurrence of representatives of each group of obligate and facultative anaerobes (<0.9%). While among women with different variants of vaginal dysbiosis, representatives of *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* reliably prevailed, accounting for 41% of the total number of microorganisms.

**Key words:** vaginal microbiocenosis, normocenosis, dysbiosis, conditionally pathogenic microorganisms, Femoflor, PCR.

вая существенную роль воспалительных заболеваний женских половых органов в структуре акушерско-гинекологической заболеваемости и осложнений, связанных с ними, установление эпидемиологического значения влагалищной микрофлоры женщин представляет особый интерес.

Микробиоценоз влагалища — это совокупность микроорганизмов, населяющих данный биотоп, представленный преимущественно лактобациллами

и некоторыми другими микроорганизмами, в норме до 400 видов различных бактерий и 150 видов вирусов, среди которых выделяют постоянную (облигатную) микрофлору и транзитную – случайно занесенную из окружающей среды [9]. Состав влагалищного микробиоценоза различается в зависимости от возраста, расовой принадлежности, гормонального статуса, сексуальных предпочтений, гигиенических привычек, приема антибактериальных препаратов. Оценка микробиоценоза влагалища имеет большое значение для диагностики инфекций репродуктивного тракта, бактериального вагиноза (БВ), а также для определения необходимости лечения и адекватного назначения терапии. В связи с этим дисбиоз влагалища связан не только с повышенным размножением транзитных микроорганизмов, но и с патогенностью постоянной микрофлоры. Одной из причин затруднений при диагностике дисбиоза и различных видов вагинозов является неоднозначность взглядов на качественный и количественный состав микробиоценоза влагалища здоровых женщин [12,13,15,17]. Ряд зарубежных исследований, изучив особенности микробиоценоза влагалища у женщин различных антропологических групп, выявили, что микробные сообщества влагалища представлены одними и теми же микроорганизмами, с доминированием лактобактерий, как основных представителей нормофлоры, однако частота встречаемости этих сообществ разная и зависит от принадлежности к той или иной антропологической группе. Например, среди афроамериканок и латиноамериканок в 40,6 и 38,1 % случаев встречался дисбиотический вариант с преобладанием облигатных анаэробов. У представительниц этих групп достоверно выше частота самопроизвольного прерывания беременности, которую связывают с БВ — дисбиозом вагинальной микрофлоры [8]. В то же время вариант нормофлоры с доминированием лактофлоры, где преобладала *Lactobacillus crispatus*, чаще выявляли у европеоидов — в 45,4 % случаев. Дисбиотический вариант микрофлоры не характерен для этой антропологической группы и был выявлен только у 10,3 % обследованных [1,2,3,4,5,6,7].

До настоящего времени для лабораторной оценки микробиоценоза влагалища применялись микроскопические, бактериологические методы и ПЦР в качественном варианте. Каждый из этих методов, несомненно, дополняет друг друга и имеет множество положительных сторон, однако, при этом данные методы имеют значительные недостатки, которые не позволяют проводить комплексный анализ микрофлоры влагалища [10,11]. Появление ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени открыло принципиально новые возможности для комплексной оценки микробных пейзажей влагалища. Помимо идентификации большинства представителей нормофлоры и условно-патогенных участников вагинального микробиоценоза, данный метод позволяет определить абсолютное количество всех выделенных микроорганизмов и оценить соотношение между ними [14,16,19].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности качественного и количественного состава микробиоценоза у женщин репродуктивного возраста узбекского региона.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На этом этапе исследования нами были обследованы 78 женщин узбекской этнопринадлежности, в возрасте от 20 до 46 лет, средний возраст которых составил  $34,5 \pm 2,3$  лет. В зависимости от предположительного диагноза женщины были разделены на 2 группы: 1 группа - женщины с заболеваниями влагалища, такими как кольпит и баквагиноз ( $n=39$ ), 2 группа - условно здоровые женщины ( $n=39$ ). Критериями исключения служили: применение препаратов-ингибиторов ПЦР (ультразвуковой контактный гель, гепарин, хлоргексидин и другие хлорсодержащие препараты), защищенный половой контакт в последние 24 часа; кольпоскопия, УЗ-исследование с помощью влагалищного датчика, незащищенный половой контакт в последние 48 часов; применение антибактериальных препаратов, пробиотиков, эубиотиков последние 2 недели; менструальное кровотечение. Всем женщинам первой и второй группы проводилось исследование влагалищного отделяемого путем оценки состояния биоценоза влагалища методом Q-PCR в детектирующем амплификаторе ДТ-96 с использованием реагентов «Фемофлор-16» и «Фемофлор-скрин» (НПО ДНК-Технология, Россия). Клиническим материалом для исследования служил соскоб эпителия бокового и заднего свода влагалища. Для получения достоверных результатов учитывались только клинические образцы с достаточным количеством контроля взятия материала. С помощью программного обеспечения рассчитывалось количество ОБМ, лактобактерий и групп условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) количественным методом и относительно ОБМ (таблица 1) [18].

Результаты анализа интерпретировались согласно предложенной классификации:

Абсолютный нормоценоз - *Lactobacillus* spp. больше 80% при количестве *Ureoplasma* spp., *Mycoplasma* spp. менее 104 ГЭ/образец или их полное отсутствие.

Условный нормоценоз - *Lactobacillus* spp. больше 80% при количестве *Ureoplasma* spp., *Mycoplasma* spp. более 104 ГЭ/образец. *Candida* spp. - более 103 ГЭ/образец

Умеренный дисбиоз - *Lactobacillus* spp. от 20% до 80%. Различают аэробный, анаэробный и смешанный. Количество условно-патогенных микроорганизмов больше 10%.

Выраженный дисбиоз - *Lactobacillus* spp. меньше 20%. Количество условно-патогенных микроорганизмов 80%-100% [18].

Для статистической обработки результатов использовался непараметрический метод сравнения двух выборок с применением критерия Манна-Уитни. Для описания групп оценивали среднее значение, стандартное отклонение, минимум и макси-

мум абсолютного количества микроорганизмов с использованием программы Microsoft Excel.

Таблица 1.

**Спектр диагностируемых микроорганизмов при исследовании биоценоза генитального тракта женщин**

НОРМОФЛОРА
Lactobacillus spp.
ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ
сем. Enterobacteriaceae
Streptococcus spp.
Staphylococcus spp.
ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ
Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp.
Eubacterium spp.
Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.
Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.
Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.
Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.
Peptostreptococcus spp.
Atopobium vaginae
ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ
Candida spp.
МИКОПЛАЗМЫ
Mycoplasma hominis
Ureaplasma (urealyticum + parvum)
ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ
Mycoplasma genitalium

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.**

В результате проведенных исследований нами было установлено, что среди женщин 1й группы умеренный анаэробный дисбиоз был обнаружен у 13 (16,7%) женщин, выраженный у 23 чел. (29,5%), а выраженный смешанный дисбиоз у 3 (3,9%) женщин. Во 2 группе при абсолютно нормальном биоценозе, в 36 % (14) был отмечен рецидивирующий кольпит в анамнезе, и так же, как и в первой группе лишь 33% женщин считали себя здоровыми. Микробиологический состав флоры у женщин, отнесенных ко 2 группе - абсолютного нормоценоза, в большинстве своем был представлен от 82, 6% до 99,6% *Lactobacillus spp.*, затем по количеству преобладали представители семейства *Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.* от 0,7 до 0,9% соответственно, и почти в равных частях представители *Сем. Enterobacteriaceae, Streptococcus spp., Eubacterium spp., Сем. Enterobacteriaceae, Staphylococcus spp., Eubacterium spp., Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp., Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp., Lachnobacterium spp.+ Clostridium spp., Mobiluncus spp.+ Corinebacterium spp., Peptostreptococcus spp., Atopobium vaginae*, и практически полным отсутствием *Candida spp., Mycoplasma hominis, Ureaplasma (urealiticum + parvum)* (рис. 1).

Состав влагалищной флоры у женщин с дисбиозами, в отличии от женщин 2 группы, характеризовался преобладанием *Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.* (41%) над *Lactobacillus spp.* (21,5%) (p=0,0002), вместе с *Atopobium vaginae, Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp., Eubacterium spp.*, т.е. представители анаэробной флоры, а затем только в неболь-

шом количестве представители *Сем. Enterobacteriaceae, Streptococcus spp., Staphylococcus spp.*, что сопоставимо с результатами оценки микрофлоры 1 группы (p>0,05). Выявленные данные свидетельствуют о том, что основными представителями дисбиоза у обследованных нами женщин можно считать *Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.* (p=0,0002), *Eubacterium spp.* (p=0,00000005), *Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp.* (p=0,0026), *Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.* (p=0,0000001), *Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.* (p=0,0078), *Mobiluncus spp. + Corinebacterium spp.* (p=0,013), *Peptostreptococcus spp.* (p=0,0001), *Atopobium vaginae* (p= 0,000005). В первой и второй группе женщин соотношение *Candida spp., Mycoplasma hominis, Ureaplasma (urealiticum+parvum)* достоверно не отличалось (p>0,05), что подтвердило отсутствие их участия в возникновении дисбиоза влагалища в качестве доминирующих представителей, что соответствует данным других авторов [3,4,8].

Наши данные демонстрируют, что изучение микробиоценоза влагалища Q-PCR методом с использованием диагностических наборов формата «Фемофлор» для комплексной оценки микробных сообществ влагалища является доступным и эффективным инструментом оценки микробиологического состояния влагалища женщин репродуктивного возраста. У женщин с клиническими признаками заболеваний влагалища (кольпит и бактериальный вагиноз) достоверно чаще диагностировался выраженный анаэробный дисбиоз по сравнению с женщинами 2й группы. Нормоценоз влагалищной флоры, характеризовался высоким содержанием *Lactobacillus spp.* (99,6%), при относительно низкой встречаемости представителей каждой группы об-

лигатных и факультативных анаэробов (<0,9%). Тогда как среди женщин с различными вариантами дисбиоза влагалища достоверно преобладали пред-

ставители *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., составляя 41% от общего числа микроорганизмов.

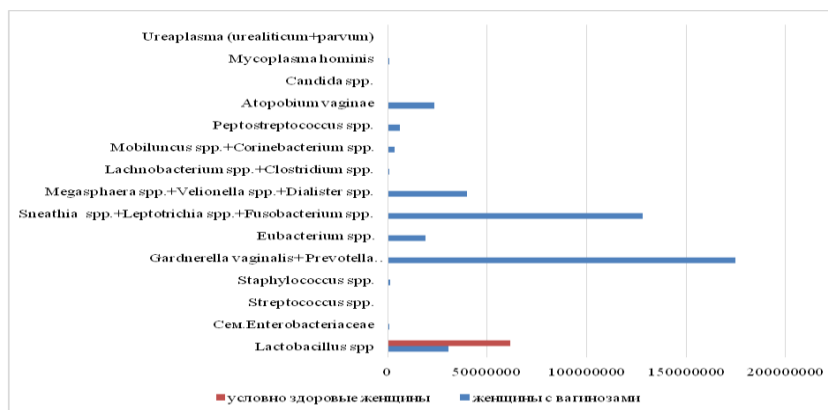


Рис. 1. Характеристика биоценоза влагалища обследованных женщин

Кроме того, нами было установлено, что не во всех случаях (в среднем около 30%) нарушение биоценоза влагалищной среды сопровождалось жалобами и объективными признаками при осмотре гинекологом. Именно такие женщины представляют большой интерес для дальнейшего изучения в плане понимания комплекса факторов в развитии гинекологических инфекционно-воспалительных заболеваний, вызванных непосредственно условно-патогенной микрофлорой.

#### ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воропаева Е. А. и др. Микроэкология и показатели гуморального иммунитета влагалища женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями гениталий. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 3. – С. 65-69.
2. Ворошилина Е.С. Совершенствование методических подходов к оценке микробиоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста. Автореф. дис ... д-ра мед. наук. – Челябинск, 2012. – 42 с.,
3. Савичева А.М. Лабораторная диагностика и терапия репродуктивно значимых инфекций // Медицинский научно-практический журнал «Лечащий врач». – 2008. – №3. – 31 с.
4. Кира Е. Ф. Бактериальный вагиноз // – СПб.: ООО «Нева-Люкс», 2001. – 364 с.;
5. Коршунов В. М. и др. Микроэкология влагалища: коррекция микрофлоры при вагинальных дисбактериозах: учеб. пособие // Рос. гос. мед. ун-т, Моск. ин-т мед.-социальной реабилитации и др. – М. : ВУНМЦ МЗ РФ, 1999. – 80 с. ;
6. Назарова В.В., Шипицына Е.В., Герасимова Е.Н., и др. Критерии диагностики бактериального вагиноза с использованием теста Фемофлор-16 // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 4. – С. 57-67.
7. Назарова Е.К., Гиммельфарб Е.И., Созаева Л.Г. Микробиоценоз влагалища и его нарушения. Этиология, патогенез, клиника, лабораторная

диагностика // Антибиотики и химиотерапия. – 2002. – Т. 47, № 4. – С. 34 – 42

8. Радзинский В.Е., Ординец И.М., Побединская О.С., Буянова Н.В.. Современные аспекты коррекции дисбиотических нарушений в гинекологической практике. Журнал для непрерывного медицинского образования врачей. Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение №2 2013 с. 72-75
9. Рыбина Е.В. Современные методы оценки микробиоценоза влагалища// Журнал акушерства и женских болезней 2015; LXIV (1): 53-66.,
10. Сухих Г.Т., Прилепская В.Н., Трофимов Д.Ю., Донников А.Е., Айламазян Э.К., Савичева А.М., Шипицына Е.В. Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест Фемофлор®), Москва, 2011
11. Шипицына Е. В., Мартикайнен З. М., Воробьева Н. Е., Ермошкина М. С., Степанова О. С., Донников А. Е., Скоркина Ю. А., Тумбинская Л. В., Савичева А. М.. Применение теста Фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища. Журнал акушерства и женских болезней. – 2009 - LVIII (3): 44-50.
12. Grice EA, Segre JA. The human microbiome: our second genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2012; 13: 151–70. DOI: 10.1146/annurev-genom-090711-163814.
13. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012 Jun 13; 486 (7402): 207–14. DOI: 10.1038/nature11234.
14. Macklaim JM, Fernandes AD, Di Bella JM, Hammond JA, Reid G, Gloor GB. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by *Lactobacillus* inners in health and dysbiosis. *Microbiome.* 2013 Apr 12; 1 (1): 12. DOI:10.1186/2049-2618-1-12.
15. Macklaim JM, Gloor GB, Anukam KC, Cribby S, Reid G. At the crossroads of vaginal health and

- disease, the genome sequence of *Lactobacillus iners* AB-1. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Mar 15;108 Suppl 1: 4688–95. DOI: 10.1073/pnas.1000086107.
16. Mendling W. Vaginal Microbiota. In: Schwartz A. (eds) Microbiota of the Human Body. Advances in Experimental Medicine and Biology, - 2016 - vol 902. Springer, Cham pp 83-93 2016;902:83-93. DOI: 10.1007/978-3-319-31248-4\_6.
  17. Ravel J, Brotman RM, Gajer P, Ma B, Nandy M, Fadrosh DW, et al. Daily temporal dynamics of vaginal microbiota before, during and after episodes of bacterial vaginosis. Microbiome. 2013 Dec 2; 1(1): 29. DOI: 10.1186/2049-2618-1-29.
  18. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Mar 15; 108 Suppl 1: 4680–7. DOI:10.1073/pnas.1002611107.
  19. Shipitsyna E, Roos A, Datcu R, Hallén A, Fredlund H, Jensen JS, Engstrand L, Unemo M. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age-sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? 2013 Apr 9;8(4):e60670. DOI: 10.1371/ journal. pone. 0060670. Print 2013.
  20. Воропаева Е. А. и др. Микрoэкология и показатели гуморального иммунитета влагалища женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями гениталий. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 3. – С. 65-69.
  21. Ворошилина Е.С. Совершенствование методических подходов к оценке микробиоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста. Автореф. дис ... д-ра мед. наук. – Челябинск, 2012. – 42 с.,
  22. Савичева А.М. Лабораторная диагностика и терапия репродуктивно значимых инфекций // Медицинский научно-практический журнал «Лечащий врач». – 2008. – №3. – 31 с.
  23. Кира Е. Ф. Бактериальный вагиноз // – СПб.: ООО «Нева-Люкс», 2001. – 364 с.;
  24. Коршунов В. М. и др. Микрoэкология влагалища: коррекция микрофлоры при вагинальных дисбактериозах: учеб. пособие // Рос. гос. мед. ун-т, Моск. ин-т мед.-социальной реабилитологии и др. – М. : ВУНМЦ МЗ РФ, 1999. – 80 с. ;
  25. Назарова В.В., Шипицына Е.В., Герасимова Е.Н., и др. Критерии диагностики бактериального вагиноза с использованием теста Фемофлор-16 // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 4. – С. 57–67.
  26. Назарова Е.К., Гиммельфарб Е.И., Созаева Л.Г. Микробиоценоз влагалища и его нарушения. Этиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика // Антибиотики и химиотерапия. – 2002. – Т. 47, № 4. – С. 34 – 42
  27. Радзинский В.Е., Ордянец И.М., Побединская О.С., Буянова Н.В.. Современные аспекты коррекции дисбиотических нарушений в гинекологической практике. Журнал для непрерывного медицинского образования врачей. Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение №2 2013 с. 72-75
  28. Рыбина Е.В. Современные методы оценки микробиоценоза влагалища // Журнал акушерства и женских болезней 2015; LXIV (1): 53-66.,
  29. Сухих Г.Т., Прилепская В.Н., Трофимов Д.Ю., Донников А.Е., Айламазян Э.К., Савичева А.М., Шипицына Е.В. Применение метода полимеразной цепной реакции в реальном времени для оценки микробиоценоза урогенитального тракта у женщин (тест Фемофлор®), Москва, 2011
  30. Шипицына Е. В., Мартикайнен З. М., Воробьева Н. Е., Ермошкина М. С., Степанова О. С., Донников А. Е., Скоркина Ю. А., Тумбинская Л. В., Савичева А. М. Применение теста Фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища. Журнал акушерства и женских болезней. – 2009 - LVIII (3): 44-50.