

Н.М. Шабанова <sup>1</sup>, Н.Е. Гаращенко <sup>2</sup>, Ю.П. Джиоев <sup>1,2</sup>, А.А. Приставка <sup>3</sup>, Е.В. Григорова <sup>1</sup>,  
У.М. Немченко <sup>1</sup>, Н.Л. Белькова <sup>1,4</sup>

## ОЦЕНКА ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ ВАГИНАЛЬНОЙ МИКРОЭКОСИСТЕМЫ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С НАРУШЕНИЯМИ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Иркутск, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

<sup>4</sup> ФГБУН «Лимнологический институт» СО РАН, Иркутск, Россия

В вагинальном биотопе исследуемой группы девочек-подростков среди лактобацилл доминируют *Lactobacillus plantarum* и *L. crispatus*. Условно-патогенная микрофлора была представлена 19 различными видами микроорганизмов с преобладанием кокковой микрофлоры. Комбинации видов в одном образце как у лактобацилл, так и условно-патогенной микрофлоры колебались от 2 до 5. Межвидовые взаимоотношения среди лактобацилл и условно-патогенной микрофлоры характеризовались высокой экологической общностью и склонностью к совместному существованию, что увеличивает риск трансформации нормальной микрофлоры в патологическую.

**Ключевые слова:** вагинальная микробиота, лактобациллы, условно-патогенная микрофлора

## ASSESSMENT OF THE RELATIONSHIP BETWEEN THE VAGINAL MICROECOSYSTEM IN TEENAGE GIRLS WITH REPRODUCTIVE DISORDERS

N.M. Shabanova <sup>1</sup>, N.E. Garashchenko <sup>2</sup>, Y.P. Dzhioev <sup>1,2</sup>, A.A. Pristavka <sup>3</sup>, E.V. Grigorova <sup>1</sup>,  
U.M. Nemchenko <sup>1</sup>, N.L. Belkova <sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

<sup>2</sup> Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

<sup>3</sup> Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

<sup>4</sup> Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russia

*Background.* Violations of indigenous microflora composition associates with a wide variety of gynecological complications. Thus, the qualitative and quantitative composition of lactobacilli and their associative capacity and functional activity may serve as a criterion of microecological well-being in the body.

*Aim.* To study species diversity of lactobacilli in vaginal biotope teenage girls with gynecological pathologies and to assess the extent of their relationship with the combination of diversity profiles associated opportunistic pathogens.

*Materials and methods.* The study included 107 adolescents with reproductive system disorders. The study was conducted with the use of gynecological and general microbiological methods.

*Results.* It was revealed that in vaginal biocenosis of the studied group of teenage girls dominating lactobacilli were *Lactobacillus plantarum* and *L. crispatus*, the incidence of other species did not exceed 21%. Among the representatives of opportunistic pathogenic microflora dominated coccal microflora and *Corynebacterium* spp., being the part of normal flora of vaginal mucosa. Analysis of species composition revealed a statistically significant relationship between certain types of lactobacilli and opportunistic microorganisms, i.e. lactobacilli showed no antagonistic activity towards the opportunistic microorganisms, and formed symbiotic relationships with them.

*Conclusions.* Most commonness was found among the minor species of lactobacilli (*L. iners*, *L. gasseri*, *L. jensenii*), coagulase-negative staphylococci and fungi of *Candida* genus, and that increases the risk of transformation of normal microflora in the pathological one.

**Key words:** vaginal microbiota, lactobacilli, pathogenic microflora

В настоящее время большое внимание уделяется проблеме изучения микробиоты вагинального биотопа как крайне важной составляющей репродуктивного здоровья девочек-подростков [10]. В составе вагинальной микробиоты у девочек-подростков доминируют лактобациллы (до 95%), обеспечивая кислую среду и тем самым создавая препятствие для патогенной микрофлоры. Тем не менее, вагинальный биотоп девочек контаминирован 40 видами микроорганизмов, а в юношеском возрасте (с 16 лет) микробиоценоз половых путей уже соответствует таковому у женщин репродуктивного возраста. При низком pH лактобациллы активно конкурируют с другими микроорганизмами за возможность адгезии

с клетками эпителия влагалища, обеспечивая колонизационную резистентность и стимуляцию иммунной системы макроорганизма. Поэтому нарушения состава индигенной микрофлоры (лактобацилл, бифидобактерий) патогенетически связаны с широким спектром гинекологических осложнений. Таким образом, качественный (видовой) и количественный состав лактобацилл, их ассоциативный потенциал и функциональная активность могут служить критерием микроэкологического благополучия в организме [1, 4].

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить видовое разнообразие лактобацилл в вагинальном биотопе девочек-подростков с ги-

некологических патологиями и оценить степень взаимосвязи их комбинационного разнообразия с профилями сопутствующих условно-патогенных микроорганизмов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследование проводилось на базе клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» в условиях стационара и включало общегинекологические и микробиологические методы. Ведение гинекологических больных проводилось согласно «Отраслевому стандарту объёмов акушерско-гинекологической помощи», Приказу МЗ от 5 ноября 1998 года № 323 [8]. Бактериологическое исследование отделяемого слизистой оболочки влагалища осуществлялось согласно методическому пособию «Микробиоценоз женских гениталий» [5]. Было исследовано 107 образцов из вагинальных мазков от девочек в возрасте от 11 до 17 лет с гинекологическими патологиями.

ДНК лактобактерий выделяли из первичной транспортной и культуральной среды набором реагентов «ДНК-сорб-АМ» (Роспотребнадзор, Москва). Типировали виды лактобацилл ПЦР-методом посредством 8 видоспецифичных пар праймеров, используя набор реагентов «AmpliSens-2000-1» (Роспотребнадзор, Москва). Пары праймеров соответствовали видам: *L. plantarum*, *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. acidophilus*. Электрофорез ПЦР-продуктов проводили в 1%-м агарозном геле. Методы статистического анализа включали: определение нормальности распределения переменных величин, дисперсионный анализ, однофакторный дисперсионный анализ с использованием ППП Statistica V 6.1.

При включении пациентов в исследование соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2008). Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» и выполнено с информированного согласия родителей пациентов.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В ходе исследования были получены результаты, показывающие степень видового комбинационного разнообразия как исследуемых лактобацилл, так и видов представителей условно-патогенной микрофлоры (УПМ). Индигенная микробиота, представленная лактобациллами, обнаруживалась у 85,9 % обследованных девочек. Анализ видовой структуры лактобацилл показал, что наиболее часто в вагинальном микробиоценозе детектируются *L. plantarum* и *L. crispatus* (85,9 ± 3,3 % и 54,2 ± 4,8 % соответственно) (рис. 1). Далее, по убыванию, частота детекции видов лактобацилл составила: *L. iners* – 20,6 ± 3,9 %; *L. gasseri* – 17,7 ± 3,7 %; *L. jensenii* – 14,9 ± 3,4 %; *L. casei* – 9,3 ± 2,8 %; *L. fermentum* – 6,5 ± 2,4 %. Ни в одном образце не был детектирован вид *L. acidophilus*, что коррелирует с литературными данными, опровер-

гающими доминантное положение данного вида в микробиоценозе влагалища [6].

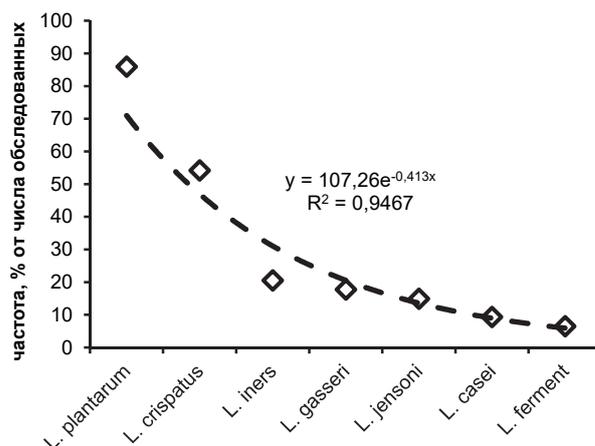


Рис. 1. Видовой состав индигенной микрофлоры вагинального биоценоза девочек-подростков.

У каждой девочки одновременно выделялось от 1 до 5 видов лактобацилл. У большинства девочек выявляли 2, 3 или 4 вида одновременно. Сочетания 2 видов встречались в 28,9 ± 4,4 % наблюдений, 3 и 4 видов – в 20,6 ± 3,9 % и 12,1 ± 3,1 %, 5 видов – в 2,8 ± 1,6 %. Один вид обнаруживался в 26,2 ± 4,2 % случаев, а в 9,3 ± 2,9 % наблюдений не было детектировано ни одного вида лактобацилл.

Структура УПМ представлена 19 различными видами (рис. 2). Доминирующее положение занимали представители кокковой флоры: *Staphylococcus epidermidis* (33,6 ± 4,5 %) и *S. haemolyticus* (16,8 ± 3,6 %). Реже высевались другие представители коагулазоотрицательных (КОС) стафилококков: *S. hominis* (8,4 ± 2,7 %) и *S. saprophyticus* (3,7 ± 1,8 %). Также достаточно редко выделялся *S. aureus* (5,6 ± 2,2 %). Второе место по частоте встречаемости занимали непатогенные *Corynebacterium spp.* (20,6 ± 3,9 %). Виды энтерококков – *Enterococcus faecalis* и *E. faecium* – фиксировались в 10,3 ± 2,9 % и 7,5 ± 2,5 % случаев соответственно. Среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* наиболее часто высевалась *Escherichia coli* (16,8 ± 3,6 %). Другие виды данного семейства обнаруживались в единичных случаях. Грибы рода *Candida* составили незначительную долю в структуре микробиоценоза влагалища и были представлены в основном *C. albicans* (8,4 ± 2,7 %) и *C. glabrata* (3,7 ± 1,8 %). Остальных представителей вагинальной микрофлоры исследуемой группы девочек-подростков можно отнести к случайным видам. Комбинации видов в одном образце как среди лактобацилл, так и среди УПМ колебались от 2 до 5.

Статистический анализ выявил нормальность распределения вероятностей в обеих выборках. Дисперсионный анализ выявил статистически значимую связь между некоторыми видами лактобацилл и УПМ, т. е. лактобациллы не проявляли антагонистической активности по отношению к УПМ, а формировали с нею симбиотические связи [7]. Причем данные связи образовывали в основном только минорные виды лактобацилл как с доминантными, так и с минорными

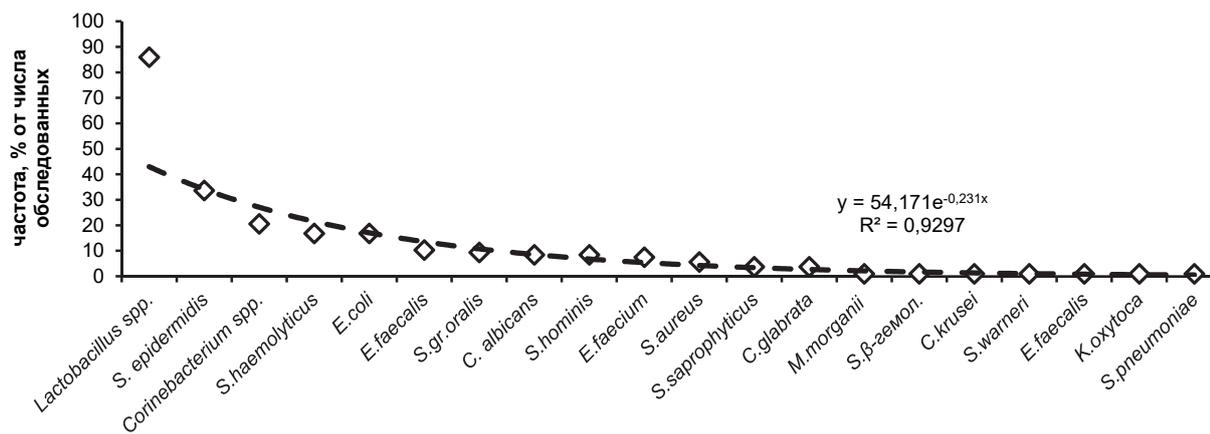


Рис. 2. Видовой спектр представителей вагинального микробиоценоза девочек-подростков.

видами УПМ. Так, минорный вид *L. iners* образовывал статистически значимую связь с доминантным видом *S. epidermidis* ( $p = 0,032$ ) и минорным видом *C. glabrata* ( $p = 0,034$ ). *L. gasseri* связывался с доминантными видами УПМ: *S. haemolyticus* ( $p = 0,028$ ), *Corynebacterium spp.* ( $p = 0,034$ ), и с минорными видами *C. albicans* ( $p = 0,017$ ), *C. glabrata* ( $p = 0,041$ ). У *L. jensenii* также была выявлена связь с представителем грибов рода *Candida* – *C. glabrata* ( $p = 0,022$ ). Среди доминантных видов лактобацилл статистически значимые связи образовывали только *L. plantarum* с *S. saprophyticus* ( $p = 0,013$ ). Вероятно, данное распределение видов связано со свойствами различных видов лактобацилл и их ролью в микробиоценозе влагалища. Считается, что *L. iners* обладает пониженными протективными свойствами и способствует развитию патологии влагалища. Данный вид является слабым продуцентом  $H_2O_2$  и обладает более слабой способностью к колонизации, что снижает его антагонистическую активность в отношении к УПМ. *L. gasseri* также обладает низкой колонизационной активностью и способен к элиминации из влагалища в течении нескольких месяцев. *L. jensenii*, в отличие от *L. iners* и *L. gasseri*, является сильным продуцентом  $H_2O_2$ , однако также проявляет низкую антагонистическую активность в отношении грибов рода *Candida* [9].

Таким образом, в вагинальном биоценозе исследуемой группы девочек-подростков лидирующие позиции среди лактобацилл занимают *L. plantarum* и *L. crispatus*, частота встречаемости остальных видов не превышала 21 %. Среди представителей УПМ доминировали кокковая микрофлора и *Corynebacterium spp.*, входящие в состав нормальной микрофлоры слизистой влагалища. Способность вырабатывать каталазу помогает выживанию коринебактерий в созданной лактобациллами перекисной среде. При этом комбинации видов как индигенной, так и УПМ колебались от 2 до 5 видов в образце. Нами выявлена статистически значимая связь между 5 видами лактобацилл и 5 представителями УПМ. Межвидовые взаимоотношения среди лактобацилл и УПМ характеризовались высокой экологической общностью и склонностью к совместному существованию. Наибольшая общность была выявлена среди минорных

видов лактобацилл (*L. iners*, *L. gasseri*, *L. jensenii*), КОСами и грибами рода *Candida*, что увеличивает риск трансформации нормальной микрофлоры в патологическую. Согласно проведенным в последнее время исследованиям, преобладание *L. iners* и *L. gasseri* в составе лактофлоры выше при дисбиотических процессах и свидетельствует о неблагоприятном состоянии вагинальной микробиоты. Все это диктует необходимость внедрения в рутинную практику акушера-гинеколога видовой идентификации лактофлоры с использованием молекулярно-генетических методов, поскольку многие виды лактобацилл относятся к трудно культивируемым бактериям [2, 3, 11, 12].

### ВЫВОДЫ

1. В вагинальном биотопе девочек-подростков среди лактобацилл доминировали *L. plantarum* и *L. crispatus*. Среди представителей УПМ доминировала кокковая микрофлора и непатогенные *Corynebacterium spp.*, входящие в состав нормальной микрофлоры слизистой влагалища.
2. Комбинации видов в одном образце как у лактобацилл, так и у УПМ колебалась от 2 до 5.
3. Выявлена статистически значимая связь между 5 видами лактобацилл и 5 представителями УПМ. Межвидовые взаимоотношения среди лактобацилл и УПМ характеризовались высокой экологической общностью и склонностью к совместному существованию.
4. Наибольшая общность была выявлена среди минорных видов лактобацилл (*L. iners*, *L. gasseri*, *L. jensenii*), КОСами и грибами рода *Candida*, что увеличивает риск трансформации нормальной микрофлоры в патологическую.

### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Айламазян Э.К. Акушерство: Национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1200 с.  
Ailamazyan EK (2007). Obstetrics: National Guidelines [Akusherstvo: Natsional'noe rukovodstvo], 1200.
2. Бондаренко В.М., Бондаренко К.Р. Вагинальная микроэкоценоза в норме и патологии // Бюллетень

Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2014. – № 1. – С. 1–12.

Bondarenko VM, Bondarenko KR (2014). Vaginal microecosystem in health and disease. [Vaginal'naya mikroekostema v norme i patologii]. *Vyulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN (elektronnyy zhurnal)*, (1), 1-12.

3. Бурменская О.В., Байрамова Г.Р., Непша О.С., Трофимов Д.Ю., Муравьева В.В., Абакарова П.Р., Стрельченко Д.А., Кряжева В.С., Сухих Г.Т. Видовой состав лактобактерий при неспецифических вагинитах и бактериальном вагинозе и его влияние на локальный иммунитет // *Акушерство и гинекология*. – 2014. – № 1. – С. 41–45.

Burmenskaya OV, Bayramova GR, Nepsha OS, Trofimov DY, Muravyova VV, Abakarova PR, Strelchenko DA, Kryazheva VS, Sukhikh GT (2014). Species composition of lactobacillus at nonspecific vaginitis and bacterial vaginosis and its influence on the local immunity [Vidovoy sostav laktobakteriy pri nespetsificheskikh vaginitakh i bakterial'nom vaginoze i ego vliyaniye na lokal'nyu immunitet]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (1), 41-45.

4. Гарден А.С. Детская и подростковая гинекология. – М.: Медицина, 2001. – 238 с.

Garden AS (2001). *Pediatric and adolescent gynecology* [Detskaya i podrostkovaya ginekologiya], 238.

5. Данилова О.П., Пономаренко В.А. Микробиоценоз женских гениталий. Учебное пособие. – СПб., 2000. – 70 с.

Danilova OP, Ponomarenko VA (2000). Microbiocenosis of female genitalia. Teaching guide [Mikrobiotsenoz zhenskikh genitaliy. Uchebnoye posobie], 70.

6. Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В., Анкирская А.С., Трофимов Д.Ю., Муравьева В.В., Муллабаева С.М., Завьялова М.Г. Видовой состав лактобактерий при разном состоянии микробиоты влагалища у беременных // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2013. – Т. 15, № 1. – С. 72–79.

Melkumyan AR, Priputnevich TV, Ankirskaya AS, Trofimov DY, Muravyova VV, Mullabaeva SM, Zav'yalova MG (2013). Species composition of lactobacillus under various conditions of vaginal microbiota in pregnant women [Vidovoy sostav laktobakteriy pri razlichnom sostoyanii mikrobioty vlagalishcha u beremennykh]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*, 15 (1), 72-79.

7. Немченко У.М., Ракова Е.Б., Попкова С.М., Сердюк Л.В., Долгих В.В., Иванова Е.И., Савелькаева М.В. Видовая характеристика бифидобактерий в кишечном биотопе детей с функциональной диспепсией // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2015. – Т. 60, № 10. – С. 50–53.

Nemchenko UM, Rakova EB, Popkova SM, Serdyuk LV, Dolgikh VV, Ivanova EI, Savelkayeva MV (2014). Species characteristics of bifid bacterium in intestinal biotope of children with functional dyspepsia [Vidovaya kharakteristika bifidobakteriy v kishechnom biotope detey s funktsional'noy dispepsiyey]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 60 (10), 50-53.

8. Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)». Приказ Минздрава России от 01.11.2012 № 572н.

On the approval of the provision of medical care on "obstetrics and gynecology (except for the use of assisted reproductive technologies)". Order of the Ministry of Health of the Russian Federation d.d. 01.11.2012 N 572n [Ob utverzhdenii Poryadka okazaniya meditsinskoy pomoshchi po profilyu «akusherstvo i ginekologiya (za isklyucheniem ispol'zovaniya vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologiy)». Prikaz Minzdrava Rossii ot 01.11.2012 № 572n].

9. Савченко Т.Н., Крамарь О.Г., Крамарь В.О., Друмова А.В. Характеристика лактобацилл, колонизирующих репродуктивный тракт женщин детородного возраста // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2011. – Т. 18, № 4. – С. 71–73.

Savchenko TN, Kramar OG, Kramar VO, Drumova AV (2011). Characteristics of lactobacilli colonizing reproductive tract of women of childbearing age [Kharakteristika laktobatsill, koloniziruyushchikh reproduktivnyy trakt zhenshchin detorodnogo vozrasta]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*, 18 (4), 71-73.

10. Уварова Е.В., Султанова Е.В. Влагалище как микроэкологическая система в норме и при воспалительных процессах гениталий различной этиологии (обзор литературы) // *Гинекология*. – 2002. – № 4. – С. 1–15.

Uvarova EV, Sultanova EV (2002). Vagina as a microecosystem both under normal and inflammatory conditions of the genitals of different etiology [Vlagalishche kak mikroekosistema v norme i pri vospalitel'nykh protsessakh genitaliy razlichnoy etiologii (obzor literatury)]. *Ginekologiya*, (4), 1-15.

11. Falsen E, Pascual C, Sjoden B, Ohlen M, Collins M (1999). Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human sources: description of *Lactobacillus inerssp. Nov. Int. J. Syst. Bacteriol.*, (49), 217-221.

12. Kalra A, Palcu C, Sobel J, Akins R (2007). Bacterial vaginosis: culture- and PCR-based characterizations of a complex polymicrobial disease's pathobiology. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 9 (6), 485-500.

**Сведения об авторах  
Information about the authors**

**Шабанова Наталья Михайловна** – младший научный сотрудник ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 33-34-41; e-mail: n.m.shabanova@mail.ru)

**Shabanova Natalya Mikhailovna** – Junior Research Officer of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems (664025, Irkutsk, Timiryazev str., 16; tel.: +7 (3952) 33-34-41; e-mail: n.m.shabanova@mail.ru)

**Гарашенко Надежда Евгеньевна** – сотрудник ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1)

**Garashchenko Nadezhda Yevgenyevna** – officer of Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, Krasnogo Vosstaniya str., 1)

**Джиоев Юрий Павлович** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: alanir07@mail.ru)

**Dhziyev Yuri Pavlovich** – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: alanir07@mail.ru)

**Приставка Алексей Александрович** – кандидат биологических наук, доцент кафедры товароведения и экспертизы товаров ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5; тел./факс: 8 (3952) 24-18-70, 8 (3952) 24-18-55; e-mail: a\_pristavka@rambler.ru)

**Pristavka Alexey Alexandrovich** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Commodity Science and Examination of Goods of Irkutsk State University (664003, Irkutsk, Sukhbaatar str., 5; tel./fax: +7 (3952) 24-18-70, +7 (3952) 24-18-55; e-mail: a\_pristavka@rambler.ru)

**Григорова Екатерина Владимировна** – младший научный сотрудник ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru)

**Grigороva Ekaterina Vladimirovna** – Junior Research Officer of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru)

**Немченко Ульяна Михайловна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: umnemch@mail.ru)

**Nemchenko Ulyana Mikhailovna** – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: umnemch@mail.ru)

**Белькова Наталья Леонидовна** – кандидат биологических наук, руководитель лаборатории микрoэкологии и микробиома ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: nlbelkova@gmail.com)

**Belkova Natalia Leonidovna** – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Microecology and Microbiome Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: nlbelkova@gmail.com)