

Д.Л. Зорников, Е.С. Ворошилина
РОЛЬ LACTOBACILLUS GASSERI В ФОРМИРОВАНИИ
ВАГИНАЛЬНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

D.L. Zornikov, E.S. Voroshilina
ROLE OF LACTOBACILLUS GASSERI IN VAGINAL
MICROBIOCENOSIS FORMATION

Department of microbiology, virology and immunology
Ural State Medical University
Yekaterinburg, Russian Federation

Контактный E-mail: phenix520@yandex.ru

Аннотация. Лактобациллы являются представителями нормальной микрофлоры влагалища. Они обеспечивают защиту данного биотопа от патогенных микробов. Однако отдельные виды лактобацилл обладают разным протективным потенциалом. Одним из видов со сниженными протективными свойствами является *L. gasseri*. Доминирование данного вида лактобацилл в настоящем исследовании было ассоциировано со сниженной долей лактофлоры в микробиоценозе. А дисбиозы с преобладанием *L. gasseri* плохо поддаются коррекции кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина.

Annotation. Lactobacilli are predominant bacteria in vaginal microenvironment of healthy reproductive age women. They protect host's vagina from colonization and infection by pathogenic microbes. However various species have different possibility for the protection. *L. gasseri* is deemed contribute less protection. In this research we have demonstrated that dominance of *L. gasseri* was associated with decreased lactobacilli amount. Correction vaginal dysbiosis with cavitated chlorhexidine solution was unsuccessful if *L. gasseri* was predominant lactobacilli species.

Ключевые слова: вагинальный микробиоценоз, дисбиоз, *L. gasseri*, полимеразная цепная реакция

Keywords: vaginal microbiocenosis, dysbiosis, *L. gasseri*, polymerase chain reaction.

Влагалище женщин репродуктивного возраста населено большим количеством микроорганизмов, защищающих генитальный тракт от патогенных микробов. У большинства здоровых женщин эпителий влагалища

преимущественно колонизирован представителями рода *Lactobacillus*, наиболее часто видами: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* и *L. gasseri* [8, 9, 10, 12, 13]. Многие авторы отмечают разную частоту выявления отдельных видов у здоровых женщин и пациенток с дисбиозом влагалища [7, 9, 10], а также различный риск трансформации нормальной микрофлоры в патологическую в зависимости от населяющего влагалище вида лактобацилл [7, 13]. Результаты этих исследований позволяют предположить наличие различных протективных потенциалов у отдельных видов лактобацилл [11]. *L. gasseri* воспринимают как вид со сниженным протективным потенциалом, а его выявление в исследовании Antonio *et al.* было ассоциировано с четырехкратным увеличением риска развития бактериального вагиноза [6] – патологического состояния, в основе которого лежит анаэробный дисбиоз [3].

Цель исследования – изучение особенностей вагинального микробиоценоза при доминировании *L. gasseri*.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 452 женщин, обратившихся в медицинский центр Гармония (г. Екатеринбург), в период с 2011 по 2014 год, состояние микробиоценоза влагалища которых удовлетворяло критериям абсолютного нормоценоза, умеренного или выраженного дисбиоза [1]. Средний возраст пациенток составил $30,3 \pm 6,6$ лет. Все пациентки были обследованы на наличие ВИЧ-инфекции, парентеральных гепатитов, возбудителей ИППП: *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* и *Trichomonas vaginalis*. При наличии любого из перечисленных возбудителей женщин исключали из исследования. Также критерием исключения являлось наличие системной или местной антимикробной терапии в течение четырех недель перед исследованием.

Материал для исследования собирали с заднебоковой стенки влагалища в пробирку Эппендорф, содержащую 1 мл физиологического раствора, хранение и транспортировку материала проводили согласно действующим нормативным документам. ДНК выделяли с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва).

Для оценки видового состава лактофлоры проводили определение количества *Lactobacillus* spp. и генотипирование шести видов лактобацилл (*L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis*) методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием реагентов для наугного применения (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва). В случае выявления нескольких видов лактобацилл одновременно доминирующим считали тот, доля которого была наибольшей.

Исследование микробиоценоза влагалища проводили методом ПЦР-РВ с помощью тест-системы «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-технология», Москва).

Результаты исследования и их обсуждение

Частота выявления и доминирования *L. gasseri* представлена на рисунке 1. *L. gasseri* выявляли у 93 (17,9%) женщин, в том числе у 49 (10,8%) – в

качестве доминирующего вида. Однако частота выявления и доминирования данного вида изменялась по мере снижения суммарной доли лактобацилл в микробиоценозе. Так у пациенток с абсолютным нормоценозом (доля лактобацилл – 80-100%) данный вид выявляли в 6,6% (у 16 пациенток из 243), а в качестве доминирующего – у 3,7% (у 9 пациенток из 243). Тогда как при умеренном (доля лактобацилл – 20-80%) и выраженном (доля лактобацилл – менее 20%) дисбиозах *L. gasseri* присутствовал в 37,5% (у 42 пациенток из 112) и 21,6% (у 21 пациенток из 97), соответственно, а в качестве доминирующего – у 27,7% (у 21 пациенток из 112) и 9,3% (у 9 пациенток из 97), соответственно.

Примечательно, что данный вид наиболее часто выявляется и доминирует при промежуточном состоянии микробиоценоза – умеренном дисбиозе. Более того вероятность доминирования данного вида наиболее высока именно при умеренном дисбиозе. Ранее нами был предложен показатель, отражающий вероятность преобладания отдельных видов лактобацилл – индекс доминирования [4]. Для расчета индекса количество выявлений вида в качестве доминирующего необходимо поделить на общее количество случаев, когда вид присутствовал в микробиоценозе и перевести результат в проценты. Индекс доминирования для *L. gasseri* был наибольшим в группе пациенток с умеренным дисбиозом – 74% (рисунок 1). То есть, данный вид при условии его выявления доминировал у женщин с умеренным дисбиозом в 74% случаев. Тогда как при выраженном дисбиозе *L. gasseri* доминировал только у 43% женщин, у которых выявляли данный вид, а при абсолютном нормоценозе – у 56% обследованных.

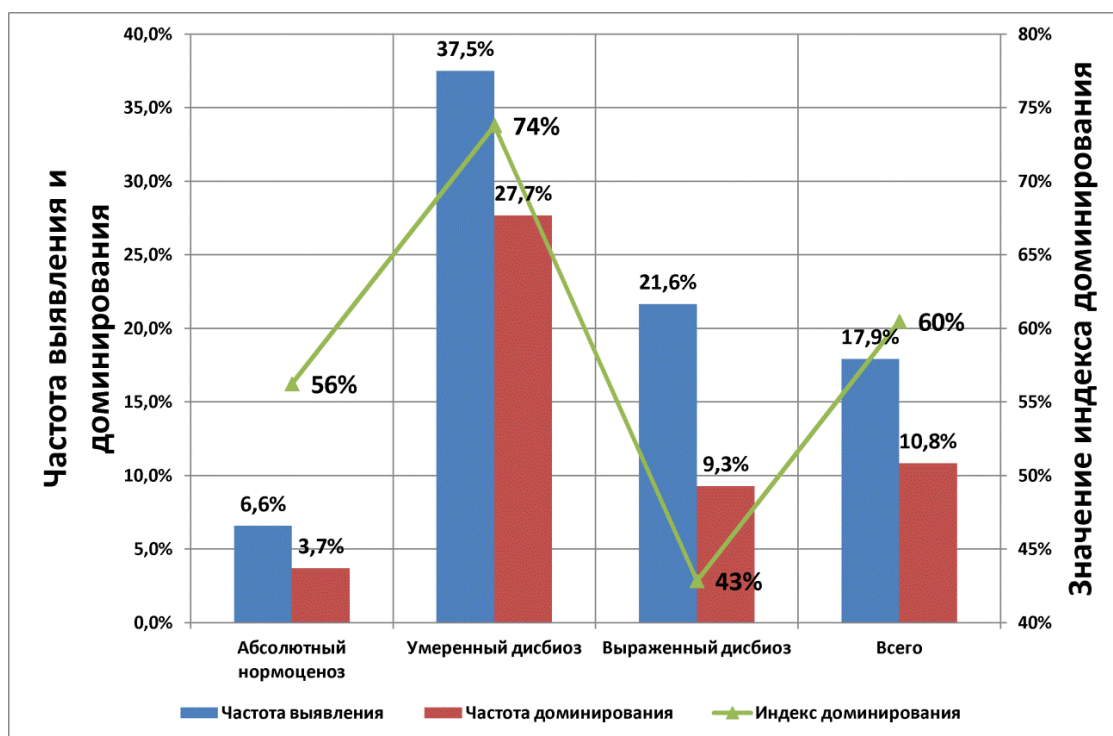


Рис. Частота выявления, доминирования и значение индекса доминирования *L. gasseri* (n=452)

В предыдущем исследовании было отмечено, что при нормоценозе с доминированием *L. gasseri* количества условно-патогенных микроорганизмов минимальны, а при дисбиозе не наблюдается значительного прироста их количества [4]. Возможно, что несколько сниженная доля нормофлоры при доминировании *L. gasseri* является вариантом нормы.

Особенностью дисбиозов с доминированием *L. gasseri* является трудность их коррекции с помощью обработки влагалища кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина. Эффективность применения данного подхода, как изолированно, так и в сочетании с пробиотиками, для коррекции дисбиоза влагалища была продемонстрирована ранее [3, 5]. Однако при доминировании *L. gasseri* наблюдалась наименьшая эффективность коррекции, что заставляет задуматься о целесообразности применения данного подхода в случае дисбиозов с преобладанием в лактофлоре *L. gasseri*.

Выводы:

1. *L. gasseri* выявляли у 19,2% женщин, в том числе у 12,3% – в качестве доминирующего вида лактобацилл.
2. Наиболее высокую частоту выявления и вероятность доминирования *L. gasseri* отмечали в группе пациенток с умеренным дисбиозом.
3. Количество УПМ при нормоценозе с доминированием *L. gasseri* и их прирост при дисбиозах минимальны.
4. Дисбиозы с лактофлорой, преимущественно представленной *L. gasseri*, слабо поддаются коррекции кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина

Литература:

1. Ворошилина Е.С., Донников А.Е., Плотко Е.Э., Тумбинская Л.В., Хаятин Л.В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма? Акушерство и гинекология. 2011; 1: 57-65.
2. Ворошилина Е.С., Зорников Д.Л., Плотко Е.Э. Коррекция дисбиоза влагалища кавитированным раствором хлоргексидина в первом триместре беременности: эффективность и безопасность. Журнал акушерства и женских болезней. 2014; 63 (5): 29-37.
3. Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. Современные возможности диагностики бактериального вагиноза: исследование количественного и качественного состава сложных микробных сообществ. Уральский медицинский журнал. 2011; 13(91): 70-5.
4. Зорников Д.Л., Тумбинская Л.В., Ворошилина Е.С. Взаимосвязь отдельных видов лактобацилл с суммарной долей лактофлоры в вагинальном микробиоценозе и группами условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированными с дисбиозом влагалища. Вестник уральской медицинской академической науки. 2015; 4 (55): 99-105

5. Плотко Е.Э., Зорников Д.Л., Хаютин Л.В., Ворошилина Е.С. Дисбиоз влагалища: видовой состав лактофлоры и возможности немедикаментозной коррекции. Акушерство и гинекология. 2015; 10: 112-117
6. Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal Lactobacillus species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. J Infect Dis. 1999 Dec;180(6):1950-6.
7. Balashov SV, Mordechai E, Adelson ME, Sobel JD, Gyax SE. Multiplex quantitative polymerase chain reaction assay for the identification and quantitation of major vaginal lactobacilli. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014 Apr;78(4):321-7.
8. Biagi E, Vitali B, Pugliese C, Candela M, Donders GG, Brigidi P. Quantitative variations in the vaginal bacterial population associated with asymptomatic infections: a real-time polymerase chain reaction study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009;28:281–5
9. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, Karlebach S, Gorle R, Russell J, Tacket CO, Brotman RM, Davis CC, Ault K, Peralta L, Forney LJ. Vaginal microbiome of reproductive-age women. Proc Natl Acad Sci USA. 2011 Mar 15;108 Suppl 1:4680-7.
10. Shi Y, Chen L, Tong J, Xu C. Preliminary characterization of vaginal microbiota in healthy Chinese women using cultivation-independent methods. J Obstet Gynaecol Res. 2009 Jun;35(3):525-32.
11. Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, De Backer E, Temmerman M, Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that L. crispatus promotes the stability of the normal vaginal microflora and that L. gasseri and/or L. iners are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. BMC Microbiol. 2009 Jun 2;9:116.
12. Yamamoto T, Zhou X, Williams CJ, Hochwalt A, Forney LJ. Bacterial populations in the vaginas of healthy adolescent women. J Pediatr Adolesc Gynecol 2009;22:11–8.
13. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG et al. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. Microbiology 2004; 150: 2565-2573.

УДК 616.428

Ю.В. Изотова, Е.А. Коток, Е.В.Сабадаш, Н.Г. Камаева
КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ: АМИЛОИДНАЯ АДЕНОПАТИЯ

Кафедра фтизиатрии и пульмонологии ФПК и ПП
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

Yu.V. Izotova, E.A. Kotok, E.V. Sabadash , N. G. Kamaeva
CLINICAL CASE: AMYLOID ADENOPATIA
Department of phthisiology and pulmonology