

БИОМЕДИЦИНА ВА АМАЛИЁТ ЖУРНАЛИ ЖУРНАЛ БИОМЕДИЦИНЫ И ПРАКТИКИ JOURNAL OF BIOMEDICINE AND PRACTICE

Иламан Мухамедович МУХАМЕДОВ,

д.м.н., профессор,

научный руководитель

Гулжахон Зафар қизи ХАЛДАРБЕКОВА

Докторант кафедры

Микробиологии и фармакологии

Ташкентского государственного

стоматологического института

ИНДЕГЕННЫЕ ЛАКТОБАКТЕРИИ ВАГИНАЛЬНОГО МИКРОБИОМА У ЖЕНЩИН ФЕРТИЛЬНОГО ВОЗРАСТА

For citation: I.M. Mukhamedov, G.Z. Khaldarbekova INDIGENOUS LACTOBACTERIA OF VAGINAL MICROBIOMA IN FERTILIZED WOMEN Journal of Biomedicine and Practice. 2021, vol. 6, issue 2, pp. 23-30



<http://dx.doi.org/10.26739/2181-9300-2021-2-4>

АННОТАЦИЯ

В данной статье приведены результаты по видовому составу рода *Lactobacillus* вагинального тракта у женщин фертильного возраста. Имея данные об изменениях данного микроорганизма в разных состояниях организма интересно стало исследовать беременных на I триместре с нормальным течением беременности и женщин после аборта на 5 день. Результаты показали значительное отличие видового состава лактобактерий у этих двух исследуемых групп.

Ключевые слова: генитальный тракт, влагалище, беременность, аборт, лактобактерии, условно-патогенная микрофлора (УПМ).

Ilaman Muxamedovich MUHAMEDOV,

t.f.d., professor, ilmiy rahbar

Guljaxon Zafar qizi XALDARBEKOVA

tayanch doktoranti

Toshkent davlat stomatologiyasi

instituti Mikrobiologiya va

farmakologiya kafedrası

FERTIL YOSHDAGI AELLARDA VAGINAL MIKROBIOMINING MAHALLY LACTOBACTERIYALARI

ANNOTATSIYA

Ushbu maqolada tug'ruq yoshidagi ayollarda qin yo'llarining *Lactobacillus* turining tur tarkibi bo'yicha natijalar keltirilgan. Tananing turli holatlarida ushbu mikroorganizmning o'zgarishi to'g'risida ma'lumotlarga ega bo'lgan holda, birinchi trimestrda homilador ayollarni normal

homiladorlik davrida va 5-kunlik abortdan keyingi ayollarni o'rganish qiziq bo'ldi. Natijalar ushbu ikki o'rganilgan guruhdagi laktobakteriyalarning tur tarkibida sezilarli farqni ko'rsatdi.

Kalit so'zlar: genital trakt, qin, homiladorlik, abort, laktobakteriyalar, ShPM (Shartli-patogen mikroflora).

Ilaman Mukhamedovich MUKHAMEDOV

DSc., professor, scientific director

Guljakhon Zafar kizi KHALDARBEKOVA

Basic doctoral student

Department of Microbiology and pharmacology

Tashkent state dental institute

INDIGENOUS LACTOBACTERIA OF VAGINAL MICROBIOMA IN FERTILIZED WOMEN

ANNOTATION

This article presents the results on the species composition of the genus *Lactobacillus* of the vaginal tract in women of fertile age. Having data on changes in this microorganism in different states of the body, it became interesting to study pregnant women in the first trimester with a normal course of pregnancy and women after an abortion on day 5. The results showed a significant difference in the species composition of lactobacilli in these two studied groups.

Key words: genital tract, vagina, pregnancy, abortion, lactobacilli, UPM.

Актуальность. Анатомическое строение, а также функции влагалища и шейки матки поддерживается нормальной микрофлорой, и именно она защищает от внедрения представителей УПМ и патогенной микрофлоры [7]. Растворенные в вагинальной среде микроэлементы и гликоген являются пищевым субстратом для микроорганизмов. Объем вагинальных выделений не вызывающий дискомфорта составляет 2-3 мл, pH в пределах 3,8-4,5. Во влагалище обитают примерно 400 видов бактерий и 150 видов вирусов [1]. Несмотря на строгую индивидуальность, резидентная микрофлора влагалища на 90-95% представлена лактобактериями, количество которых около 10^7 - 10^9 КОЕ/мл. Преобладание лактобактерий, отсутствие лейкоцитов и наличие единичных эпителиоцитов является показателем чистоты влагалища. Колонизируя слизистую оболочку влагалища, лактобактерии формируют экологический барьер и обеспечивают резистентность вагинального биотопа [6]. Кроме этого, эти микроорганизмы имея высокую антагонистическую способность препятствуют размножению условно-патогенной микрофлоры. Помимо основных свойств они также стимулируют фагоцитарную активности нейтрофилов и макрофагов, усиливают образование интерферонов и секреторных иммуноглобулинов sIgA.

Вагинальные лактобактерии впервые были описаны в 1892 г. Немецким гинекологом Альбертом Додерлейном [14]. Из 20 существующих штаммов влагалища здоровой женщины может быть колонизировано только 4 видами, и до сих пор учеными не определен конкретный характер комбинации этих видов [9]. После 1990-х годов спектр других доминирующих видов лактобацилл стал меняться: стали доминировать *L.jensenii*, *L.casei*, *L.fermentum*, реже встречались *L.brevis*, *L.crispatus*, *L.gasseri* [18].

В последнее десятилетие приобретает популярность идентификация лактобактерий разными инновационными методами, и результаты каждого метода в малых степенях превосходят друг - друга. Например, с использованием Масс-спектрометрии в качестве основных видов лактобактерий влагалища были заявлены *L.crispatus*, *L.jensenii* и *L.gasseri* [8]. методом генотипирования самыми распространенными видами стали *L.crispatus*, *L.jensenii*, *L.gasseri*, а низкой чистотой выявляли: *L.fermentum*, *L.oris*, *L.plantarum*, *L.reuteri*, *L.rumis*, *L.salivarius*, *L.vaginalis*. Секвенирование, как метод идентификации лактобактерий, утвердил вышеуказанные результаты. А ещё выявил регулярное определение но в низких пропорциях *L.vaginalis* [19,20]. Выяснилось, что бактерии *L.iners* не растут на повсеместно используемых

для культивирования лактобактерий твердых средах MRS, и это послужило позднее открытие *L.iners* лишь в 1999 г. По мнению разных авторов, доминирование *Lactobacillus* варьирует в зависимости от этнической группы. Так, в частности, *L.jensenii* преимущественно встречается у женщин Азии и Кавказа, а *L.gasseri* отсутствует у африканских женщин [15].

Результаты нескольких работ отрицают общепринятую закономерность: в Индии высокий процент выявления *L.reuteri* и *L.salivarius* [10], *L.rhamnosus* в Мексике и Иране, *L.fermentum* в Индии и Мексике [17]. По мнению Демкина В.В. и соавт. (2018 г.) важнейшими индикаторами вагинального здоровья являются бактерии вида *L.crispatus*, доминирование которых свидетельствует о нормоценозе, и *L.iners*, чье преобладающее присутствие говорит о неблагополучии в вагинальном биоценозе. Значение видов *L.jensenii* и *L.gasseri* остаются неясными и представляют интерес для исследований [2].

Особенностью лактофлоры влагалища является её изменчивость под действием экзогенных и эндогенных факторов. Лактобактерии расщепляя достаточное количество гликогена до молочной кислоты образуют кислую среду, тем самым создают оптимальные условия для жизнедеятельности H_2O_2 – продуцирующих лактобацилл [5]. Повышая вязкость цервикальной слизи они ограничивают прохождение патогенных микроорганизмов через цервикальный канал. Устойчивость лактофлоры обеспечивается комплементарным взаимодействием гормональной, нервной и иммунной систем. Нарушение функции в одной из систем, как правило приводит к дисбиозу [12]. Так например, при снижении уровня эстрогенов, нарушается процесс образования гликогена, ухудшаются условия для жизнедеятельности лактобактерий и их количество уменьшается. Это приводит к увеличению количества факультативной микрофлоры, что создает благоприятные условия для развития воспалительного процесса [4]. К факторам влияющие на изменения видового состава лактобактерий можно отнести и гинекологические оперативные вмешательства, например аборт. Последние годы число абортов увеличивается во всем мире [3]. Как правило, после abortивного процесса проводится лечение по восстановлению нормофлоры генитального тракта. Для этого используются *Lactobacillus* – содержащие вагинальные таблетки, так как доказано восстановление утраченных видов экзогенными лактобактериями [16]. Для восстановления важно иметь данные о видовом составе лактобактерий влагалища. К сожалению, в настоящее время нет полных и достоверных результатов о состоянии лактофлоры влагалища у женщин фертильного возраста Республики Узбекистан во время беременности (до аборта) и после abortивных процессов.

В результате этих исследований можно установить отличие микрофлоры, в частности лактофлоры генитального тракта по количественным и качественным критериям у женщин фертильного возраста.

Цель и задача исследования. Изучение количественного и качественного состава лактобактерий генитального тракта у женщин на I триместре беременности и после аборта на 5 день. А также, сравнение полученных результатов с показателями зарубежных исследований по данной направленности. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- изучить микрофлору полости рта у здоровых и больных с кариесом женщин фертильного возраста;
- определить количественный и видовой состав лактобактерий у испытуемых групп;
- составить сравнительный анализ результатов между двух групп;
- сравнить результаты с показателями зарубежных стран (Оренбургской области Российской Федерации).

Материал и методы. Было осуществлено когортное поперечное исследование, которое включало комплексное гинекологическое обследование, изучение микробиологических особенностей генитального тракта, количественный и видовой состав лактобактерий у беременных на I триместре беременности с нормальным течением и после аборта женщин в возрасте 20-40 лет. К исследованиям было привлечено 119 женщин. Для возможности проведения сравнительного анализа результатов испытуемые были разделены на две группы: до аборта – после аборта.

Чистую культуру лактобацилл выделяли путём раститровки исследуемого материала. Для выращивания культур использовали модифицированные питательные среды МРС (среда J.C. De Man, M.Rogosa и E.Sharpe): полужидкую, содержащую 0,15% агара (МРС-2) и плотную, содержащую 2% агара (МРС-4). Культивировали 24 часа при температуре 37⁰С в эксикаторе со свечой при повышенном содержании СО₂ и в аэробных условиях. Идентификацию чистых культур проводили по культуральным, морфологическим, тинкториальным, биохимическим свойствам. К бактериям *Lactobacillus* относили микроаэрофильные, грамположительные, палочковидные, неподвижные, неспорообразующие, не обладающие каталазой микроорганизмы. Изолированные колонии, типичные для лактобацилл, пересевали на полужидкую среду МРС-2. Через 2-е суток инкубации из всех пробирок выполняли контрольные мазки, после чего культуры использовали для постановки пестрого ряда. Идентификация лактобактерий проводили по методу Гисса (пёстрый ряд углеводов), а также по определителю Берджия (*The Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*) [11,13]. Классическая микробиологическая схема идентификация видов основана на изучении метаболизма сахаров и представляет собой “пестрый ряд”, состоящий из 14 субстратов (Таблица 1).

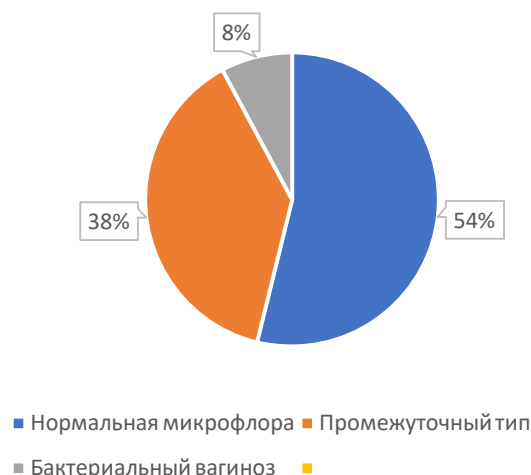
Таблица 1. Ферментация углеводов лактобациллами, выделенными из биотопов тела человека.

ВИДЫ УГЛЕВОДЫ	<i>L.acidophilus</i>	<i>L.casei</i>	<i>L.fermentum</i>	<i>L.vaginalis</i>	<i>L.rhamnosus</i>	<i>L.salivarius</i>	<i>L.jensenii</i>	<i>L.crispatus</i>	<i>L.gasseri</i>
Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Арабиноза	-	-	+	+	+	+	-	-	-
Галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ксилоза	-	-	+	+	-	-	-	-	-
Лактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Мальтоза	+	-	+	+	+	-	+	+	+
Маннит	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Манноза	+	-	+	+	+	-	+	+	+
Рамноза	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Раффиноза	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Сахароза	+	-	+	+	+	-	+	+	+
Сорбит	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Целлобиоза	+	-	+	+	+	-	+	+	+

Результаты исследования. В результате исследования установлено, что у женщин после абортного процесса наблюдались наиболее выраженные дисбиотические изменения как вагинальной, так в микрофлоре уретры и цервикального канала. Эта микробиологическая картина характеризуется сниженным количеством лактобактерий и бифидобактерий, а также наличием определенной ассоциации микроорганизмов, таких как *Клибсиелла*, *Протей*, *Пептострептококк*. Данное явление приводит к развитию бактериального вагиноза (БВ), и дисбиоза остальных исследуемых экосистем. Это объясняется самым абортным процессом, после чего происходит гормональный дисбаланс, при которых регуляция обсемененности биотопа сильно изменяется и снижается концентрация лактобактерий и бифидобактерий. А, проведение антибиотикотерапии у пациенток после аборта приводит к снижению иммунного состояния организма, и учащению встречаемости представителей УПМ.

В результате исследований беременных I триместре нормальная микрофлора была обнаружена у 53,8 %, промежуточный тип микрофлоры у 8,4 %, бактериальный вагиноз у 7,8%. После аборта эти показатели изменились на 19,5%, 48,3% и 32,2% соответственно. (Рисунок №1)

Показатели микрофлоры влагалища у беременных на I триместре беременности



В связи с приспособлением к обитанию в определенных условиях лактобактерии утратили способность к синтезу многих метаболитов, но приобрели свойства, позволяющие успешно колонизировать свою экологическую нишу и конкурировать в ней – способность утилизировать многие сахара, фосфолигосахариды. Классическая микробиологическая схема идентификации видов лактобактерий основана на изучении метаболизма сахаров и представляет собой «пёстрый ряд» состоящий из 16 субстратов (Метод Гисса).

Встречаемость, то есть видовой состав лактобактерий в исследуемых группах достаточно варьировало. Исходя из

этого, их процентные соотношения тоже отличались (Таблица 2).

Таблица 2

Видовой состав лактобактерий влагалища у беременных и после аборта женщин фертильного возраста.

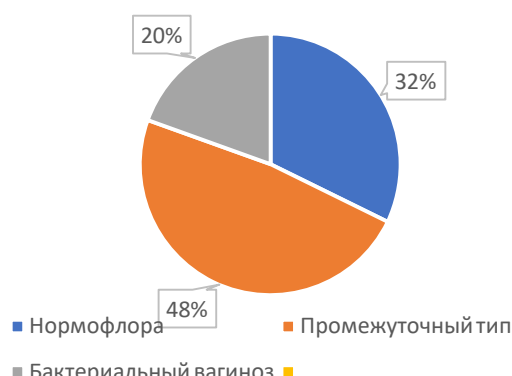
Виды лактобактерий	Встречаемость		Их процентное соотношение	
	Беременные	После аборта	Беременные	После аборта
L.jensenii	86,36 %	75,75 %	26,26 %	23,4 %
L.crispatus	75,75 %	75,4 %	23,04 %	23,4 %
L.gasseri	60,6 %	54,7 %	18,43 %	16,9 %
L.vaginalis	57,5 %	73,58 %	17,5 %	22,8 %
L.rhamnosus	48,48 %	43,4 %	14,7 %	13,45 %

При идентификации влагалищных лактобактерий у беременных женщин доминирующими видами стали *L.jensenii*, *L.crispatus* и *L.gasseri*, у женщин после аборта вместо *L.gasseri* стал доминировать *L.vaginalis*. По вышеуказанным результатам видно что, у женщин после аборта во влагалище наблюдается умеренное снижение *L.jensenii*, *L.gasseri*, *L. rhamnosus* до 23,4%, 16,9% и 13,45% соответственно, и увеличение *L.vaginalis* до 22,8% (Рисунок 2).

Увеличение количества у женщин после аборта *L.vaginalis* чьё присутствие и значение для данного микробиома не изучен до конца, вызывает интерес к исследованию биологических свойств а также, их изменения в норме и в разные периоды жизнедеятельности женщин.

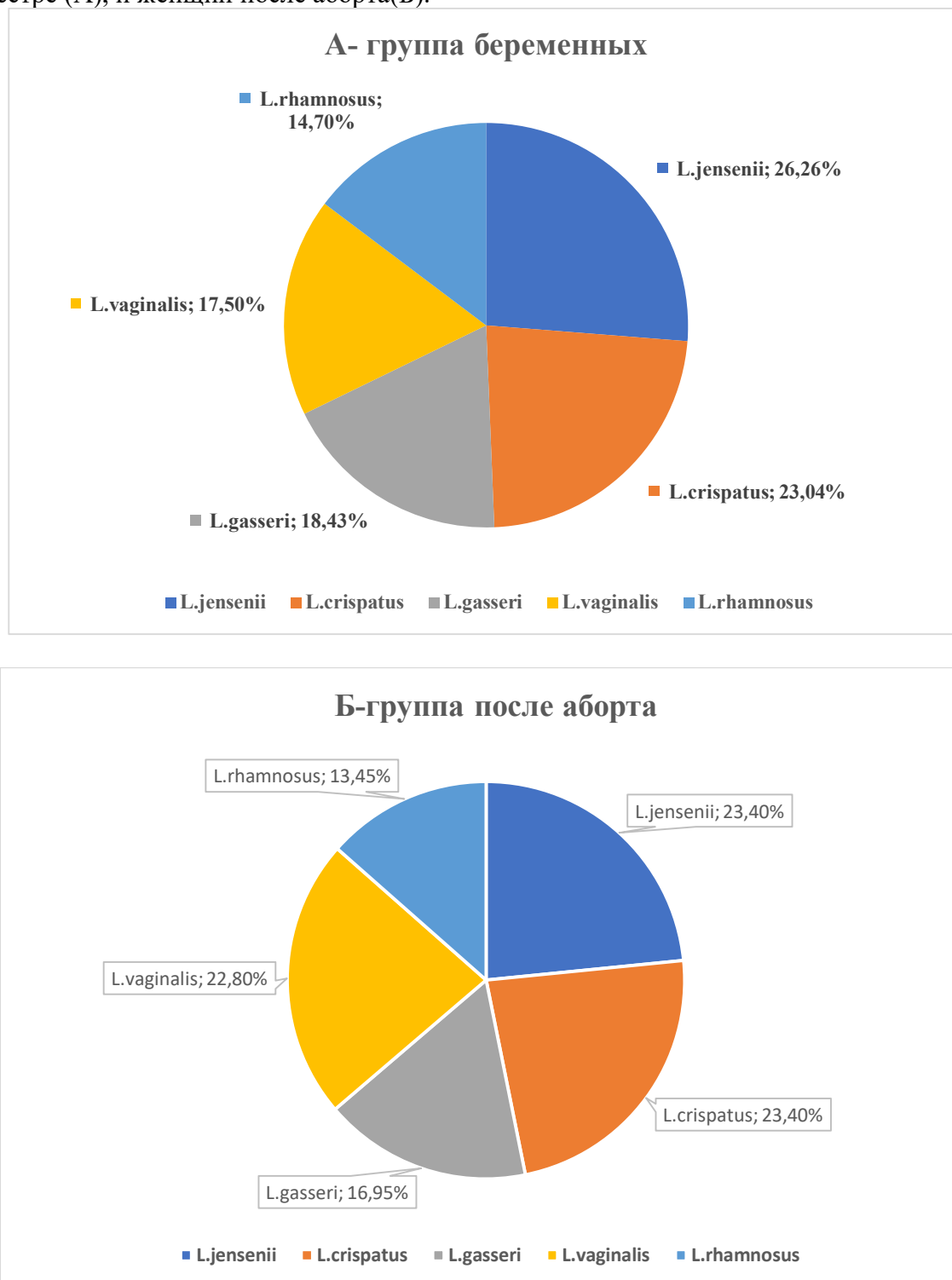
В ходе исследования полученные результаты были сравнены с данными Оренбургской области Российской Федерации. Как не странно, видовой состав лактофлоры влагалища сильно отличался, при этом свойственными лактобактериями являлись - *L.fermentum*, *L.acidophilus*, *L.casei*, *L.rhamnosus*. Если у здоровых женщин доминировал *L.fermentum*,

Показатели микрофлоры влагалища у женщин после аборта на 5 день



напротив у женщин страдающих с дисбактериозом количество этого вида резко уменьшается, и доминирование переходит к *L.rhamnosus*.

Рисунок 2. Сравнительная картина видового состава у беременных женщин на I триместре (А), и женщин после аборта(Б).



Самым устойчивым видом оказался *L.crispatus*, не меняя свой показатель – 23 % в обеих исследуемых групп. Это ещё раз доказывает широкое распространение данного вида во всех этнических группах и вызывает больший интерес к дальнейшему исследованию состояния и значения биологических свойств.

Выводы. 1.Согласно установленным данным, можно считать состав микрофлоры и лактобактерий генитального тракта у беременных женщин фертильного возраста достаточно

стабильным как в количественном так и качественном отношении. И эти результаты полностью соответствуют установленным ранее критериям и конечно-же микрoэкологический баланс генитального тракта поддерживается в норме.

2. Выяснилось, что в видовом составе лактофлоры влагалища у беременных женщин на I триместре доминируют *L.jensenii*, *L.crispatus* и, *L.gasseri* в равных долях, тогда как у женщин после аборта *L.vaginalis* значительно возрастает.

3. Основываясь на этих данных, считаем целесообразным добавление данных видов в состав *Lactobacillus* – содержащих вагинальных таблеток для восстановления лактофлоры в разных дисбиотических состояниях, вызванных различными причинами генитального тракта.

Список литературы:

1. Володин Н.Н. и др. Микробная экология влагалища // Журнал Микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.-2002.-№6.-С.91-99.
2. Демкин В.В. Видовое разнообразие лактобактерий вагинального микробиома: как посмотреть // Жур.Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, №3. 2013. С.3-12.
3. Доброхотова Ю.Э., Затилян Н.Г., Джобова Э.М. Микробиоценоз влагалища и тарнсвагинальная контрацепция в репродуктивном возрасте // Жур.Лечебное дело, №1.-2008. С.57-60.
4. Доброхотова Ю.Э., Затилян Н.Г.Гормональный статус и микробиоценоз влагалища // Жур.ОРЖИН, №2(2). 2008. С.-7-9.
5. Исаева А.С., Летаров А.В., Ильина Е.Н., и др. Видовая идентификация влагалищных лактобацилл, выделенных у женщин репродуктивного возраста // Акушерство и гинекология. 2012, 3: 60-64.
6. Каттаходжаева М.Х. Неспецифические воспалительные заболевания женских половых органов // Дисс.док.наук.-Ташкент.- 1995.-С.17-25.
7. Мухамедов И.М., Махкамова Д.Э., Мухамедов Б.И. Микрoэкология влагалища, её нарушения и пути их коррекции. Т., 2004.
8. Anderson A.C., Sanunu M., Schneider C., et al. Rapid species – level identification of vaginal and oral lactobacilli using Maldi-TOF MS analysis and 16SrDNA sequencing. BMC Microbiology.2014;14:12.
9. Characterization of microbial communities found in the human vagina by analysis of terminal restriction fragment length polymorphisms of 16SrRNA genes // M.Z.L.Coolen [et al.]/ Appl. Environ microbiol.-2005/-Vol.71,№12.-P.8729-8737.
10. Garg K.B., Ganguli I., Das R., Talwar G.P.Spectrum of Lactobacillus species present in healthy vagina of Indian women // The Indian Journal of Medical Research. 2009;129(6):652-657.
11. Graf E., Tenovuo J., Lehtonen O.P., Eerola E., Vilja P. Antimicrobial systems of human whole saliva in relation to dental caries, cariogenic bacteria and gingival inflammation in young adults // acta odontol. Scan.-1980.46(2)-P.67-74.
12. Karagozov I. Vaginal ecosystem / I.Karagozov, E.Shopova, P.Andreeva // Akush.Ginekol. – 2004.-Vol.43.-P.34-43.
13. Koll-Klais P., Mandae R., Leibur E. et al. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity // Oral microbiology, immunology. -2005.-№20(6)-P.354-361.
14. Lepargneur J.P., Rousseau V. Protective role of the Doderlein flora // J.Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.2002., 31(5);485-94.
15. MacIntyre D.A., Chandiramani M., et al. The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population. Sci.Rep.2015., 5: 8988.
16. Mastromarino P., Maschia S., Meggiorini L., Trinchieri V., Mosca L., Perluigi M., Midulla C. Effectiveness of Lactobacillus containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic

- bacterial vaginosis // Jour. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.- 2008.V.15.P:67-74
17. Mousavi E., Macvandii M., Teimoori A., et al. In vitro adherence of Lactobacillus strains isolated from the vaginas of healthy Iranian women. Journal of the Chinese Medical Association. 2016; 79(12):665-671.
 18. Pascual L.M., Daniele M.B., Pajaro C., Barberis L. Lactobacillus species isolated from the vagina: identification, hydrogen peroxide production and nonoxynol-9 resistance // Contraception. 2006;73(1):78-81.
 19. Pendharkar S., Magopane T., Larsson P.G., et al. Identification and characterization of vaginal lactobacilli from South African women. BMC Infectious Diseases.2013;13:43.
 20. Zhou X., Brown C., Abdo Z., et al. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women // The ISME Journal. 2007;1(2):121-133.