New Day in Medicine
Новый День в Медицине
NDM

TIBBIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal

AVICENNA-MED.UZ

ISSN 2181-712X.
EiSSN 2181-2187

7 (57) 2023

Сопредседатели редакционной коллегии:

Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ

Ред. коллегия:

М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
Л.М. АБДУЛЛАЕВА
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
Т.А. АСКАРОВ
М.А. АРТИКОВА
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
Н.Н. ЗОЛОТОВА
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВ
С.И. ИСМОИЛОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Б.Т. РАХИМОВ
Х.А. РАСУЛОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОЕВ
С.А.ГАФФОРОВ
С.Т. ШАТМАНОВ (Кыргызстан)
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОЕВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х.ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
Д.О. ИВАНОВ (Россия)
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV(Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

www.bsmi.uz
https://newdaymedicine.com
E: ndmuz@mail.ru
Тел: +99890 8061882

ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН

НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ

NEW DAY IN MEDICINE

Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал
Научно-реферативный,
духовно-просветительский журнал

УЧРЕДИТЕЛИ:

БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»

Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского является генеральным научно-практическим консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных изданий, рецензируемых Высшей Аттестационной Комиссией Республики Узбекистан (Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)
Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)
А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)
Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)
Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)
У.К. КАЮМОВ (Тошкент)
Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)
А.А. НОСИРОВ (Ташкент)
А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)
Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)
Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

7 (57)

2023

ИЮЛЬ

Received: 20.06.2023, Accepted: 30.06.2023, Published: 10.07.2023.

УДК 618+616:579.61+616.15+615.38.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ВЛАГАЛИЩА: ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА

Рахматуллаева М.М. https://orcid.org/0000-0003-1987-6136

Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сины, Узбекистан, г. Бухара, ул. А. Навои. 1 Тел: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ ***Резюме***

Бактериальный вагиноз является полимикробной биопленочной инфекцией, однако существуют определенные бактериальные маркеры, которые потенцируют тяжесть течения инфекционного процесса. Относительно низкое содержание лактобактерий с высоким присутствием облигатных анаэробов в динамике после лечения являются рещающим в проявлении негативных исходов лечения и развития рецидивов бактериального вагиноза.

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, лактобактерии, облигатные анаэробы, Gardnerella vaginalis.

VAGINAL MIKROBIOTA TARKIBINING MIKROBIOLOGIK DETERMINANTLARI: ULARNING BAKTERIAL VAGINOZ RIVOJLANISHIDAGI ROLI

Rahmatullayeva M.M. https://orcid.org/0000-0003-1987-6136

Abu Ali ibn Sino nomidagi Buxoro davlat tibbiyot instituti, O‘zbekiston, Buxoro, st. A. Navoiy. 1 Tel: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ ***Rezyume***

Bakterial vaginoz polimikrob bioqobiqli infeksiyasidir, ammo yuqumli jarayonning og'irligini kuchaytiradigan ba'zi bakterial markerlar mavjud. Davolanishdan keyin dinamikada laktobakteriyalarning nisbatan past miqdori va obligat anaeroblar yuqori bo'lishi davolashning salbiy natijalari va bakterial vaginozning qaytalanishi rivojlanishida hal qiluvchi ahamiyatga ega.

Kalit so‘zlar: bakterial vaginoz, laktobakteriyalar, obligat anaeroblar, Gardnerella vaginalis.

MICROBIOLOGICAL DETERMINANTS OF THE COMPOSITION OF THE VAGINAL MICROBIOTA: THEIR ROLE IN THE DEVELOPMENT OF BACTERIAL VAGINOSIS

Rakhmatullaeva M.M. https://orcid.org/0000-0003-1987-6136

Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sina Uzbekistan Bukhara, A.Navoi st. 1 Tel: +998(65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ ***Resume***

Bacterial vaginosis is a polymicrobial biofilm infection, however, there are certain bacterial markers that potentiate the severity of the course of the infectious process. A relatively low content of lactobacilli with a high presence of obligate anaerobes in the dynamics after treatment is crucial in the manifestation of negative treatment outcomes and the development of relapses of bacterial vaginosis.

Key words: bacterial vaginosis, lactobacilli, obligate anaerobes, Gardnerella vaginalis.

Актуальность

Бактериальный вагиноз вызывается дисбалансом естественной вагинальной флоры, характеризующимся как изменением наиболее распространенного типа присутствующих бактерий, так и увеличением общего количества присутствующих бактерий. Виды *Lactobacillus spp.* доминируют в нормальной микробиоте влагалища [1]. Бактериальный вагиноз связан со снижением общего количества лактобактерий. Хотя это все еще неясно, считается, что большинство инфекций бактериального вагиноза начинается с *Gardnerella vaginalis*, создавая

биопленку, которая затем позволяет другим условно-патогенным бактериям расти во влагалище [6].

В ряде исследований было показано, что *Gardnerella vaginalis* обнаруживается как компонент вагинального сообщества практически во всех случаях БВ, хотя его можно обнаружить и в отсутствие БВ [8]. Было показано, что большинство БВ-ассоциированных бактерий имели тенденцию расти как биопленки, однако самую высокую вирулентность имела *Gardnerella vaginalis*. Основными факторами вирулентности *Gardnerella vaginalis* являются цитотоксичность, способность продуцировать фермент сиалидазу, адгезия к эпителиальным клеткам, способность образовывать бактериальные пленки [4]. Как показывают недавние исследования, *Gardnerella vaginalis* может быть необходимым, но недостаточным стимулом для развития БВ [8], поскольку присутствие этой бактерии не всегда приводит к БВ [10]. Исследования Janulaitiene M. et al. [9] показали, что *Gardnerella vaginalis* присутствует во влагалище у женщин, не имеющих признаков БВ, а заболеваемость БВ значительно выше, что свидетельствует в пользу того, что в патогенезе заболевания может сыграть роль каждый член полимикробного сообщества данной экологической ниши.

Вторым по частоте встречаемости после *Gardnerella vaginalis* были выявлены бактерии рода *Prevotella.* Известно, что для грамотрицательных бактерий, в том числе *Prevotella spp.,* патогенетически наиболее существенным, безусловно, является экзополисахарид клеточной стенки. Используя поверхностные полисахариды для имитации гликановой структуры хозяина, патогенные бактерии могут уклоняться от иммунной системы хозяина во время колонизации [11]. Возможно, эта особенность не исключает успешную колонизацию как *Prevotella spp.,* так и *Gardnerella vaginalis* и создает условия для реализации патогенных свойств бактерий.

В настоящее время с помощью молекулярно-биологических методов диагностики определены ряд BVAB бактерий, такие как *Atopobium vaginae, Megasphaera spp., Eggertella spp., Leptotrichia spp., Dialister spp., Slackia spp.,* BVAB-1, BVAB-2, BVAB-3, *Sneathia spp.* и др. [2]. В in vitro модели было продемонстрировано, что *Atopobium vaginae* стимулирует врожденный иммунный ответ со стороны эпителиальных клеток путем взаимодействия с TLR2, приводящий к запуску выработки IL-6, IL-8 и антимикробного пептида β-дефензина, и это возможно, вносит свой вклад в патогенез БВ [10]. Бактерия редко существует в виде одиночных планктонных форм, так как быстро теряет жизнеспособность [6], для него больше характерно существование в сложных полимикробных сообществах, окруженных внеклеточными матрицами – биопленками [7].

Значимую ассоциацию с БВ имеют *Eubacterium* – грамположительные бактерии семейства *Eubacteriacea.* В исследовании Назаровой В.В. и соавт. этот микроорганизм идентифицирован практически у всех БВ-позитивных женщин, причем его содержание в некоторых образцах было довольно высоким (до 60% общей бактериальной массы) [2]. При БВ также в значительных количествах присутствуют *Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.* (95,2%) и *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.* (92,9%). *Ureaplasma spp.* выявляется чаще, чем *Mycoplasma hominis* при БВ. Частота выявления *Ureaplasma spp.* по данным авторов составляет 69–71,2%, а *Mycoplasma hominis* – 28–34,2% [2]. Как видно, БВ ассоциирован с огромным спектром бактерий. Пять видов бактерий, а именно *Atopobium vaginae, Gardnerella vaginalis, Eggerthella-like, Megasphaera, Leptotrichia* и *Sneathia* были обнаружены у большинства женщин с БВ и, могут рассматриваться как бактериальные индикаторы этого заболевания [2].

Появляется все больше свидетельств того, что состав вагинальной микробиоты женщины значительно влияет на ее сексуальное и репродуктивное здоровье, включая риск неблагоприятных исходов родов, выкидыш и преждевременные роды, а также заражение инфекциями, включая ВИЧ и другие патогены, передающиеся половым путем. Попытки корригировать состав вагинальной микробиоты с помощью антибиотиков или пробиотиков показали кратковременный терапевтический успех, поскольку применение этих препаратов в качестве монотерапии или в комплексе, связаны с неудачами лечения, и частота рецидивов БВ может составлять 50-80% через один год после лечения любым из препаратов [3]. Разработка эффективных вмешательств по модулированию вагинальной микробиоты требует изучения изменения состава вагинальных микробных сообществ до и в динамике после лечения.

Цель исследования: определить наиболее важные бактериальные маркеры неблагоприятного исхода лечения бактериального вагиноза.

Материал и методы

В исследование включены 136 женщин репродуктивного возраста, из которых 110 женщин с БВ составили основную группу и 26 условно-здоровых женщин группу контроля. Проведена оценка соматического и гинекологического статуса женщин. Определяли наличие критериев Амселя: обильные, жидкие выделения, pH влагалищного отделяемого более 4,5, положительный аминный тест (оцениваемый как специфический «рыбный запах» при смешивании вагинальных выделений с гидрооксидом калия) и выявление «ключевых клеток» (десквамированных эпителиальных клеток с адгезировавшимся на них грамвариабельной микрофлорой) в мазках из влагалища. Состояние микробиоценоза влагалища оценивали путем проведения микроскопического исследования вагинального отделяемого по Граму и молекулярно-биологическим методом ПЦР-РВ с помощью комплекта реагентов Фемофлор-16.

Полученные нами при исследовании данные подверглись статистической обработке на персональном компьютере Pentium-IV с помощью программного пакета Microsoft Office Excel-2003, включая использование встроенных функций статистической обработки. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результат и обсуждение

Средний возраст женщин основной группы составил 34,7±0,71 лет, контрольной – 33,7±0,93 лет ($p>0,05$). Интеллектуальным трудом занимались 46,0% и 43,2% женщин основной и контрольной групп, рабочими являлись 28,0% и 35,8%, безработными (домохозяйками) – 24,0% и 20,0%, студентами – 2,0% и 1,1% женщин соответственно ($p>0,05$). Группы исследования по основным клинико-анамнестическим параметрам, учитывающим социальный статус, соматические и репродуктивные данные, акушерский и гинекологический анамнез, методов контрацепции практически не отличались. Но вместе с тем, частота высокого ИМТ, абортов, оперативных родов, перинатальной смертности, заболеваний мочевыделительной системы, инфекционно-воспалительных заболеваний влагалища в анамнезе была значительно выше в основной группе по сравнению с группой контроля ($p<0,05$).

Как абсолютное (3,92±0,22 lg ГЭ/мл), так и относительное содержание (4,34±1,26%) лактофлоры у женщин с БВ было очень низким ($p<0,001$). Выявлено достоверно высокое содержание *Gardnerella vaginalis* ($p<0,001$), *Eubacterium spp.* ($p<0,005$), *Sneathia/Leptotrichia/Fusobacterium spp.* и *Megasphaera/Veillonella/Dialister spp.* ($p<0,001$), *Lachnobacterium/Clostridium spp*. ($p=0,013$), *Mobiluncus/Corynebacterium spp.* ($p=0,004$), *Peptostreptococcus spp.* и *Atopobium vaginae* ($p<0,001$) у женщин с БВ. Из комменсальных микроорганизмов только *Mycoplasma hominis* достоверно превышала контрольные показатели ($p=0,007$).

В зависимости от молекулярно-биологического профиля микробиоты влагалища женщин основной группы сформированы подгруппы: 1-группа – пациентки с выраженным анаэробным дисбиозом (с преобладанием в составе микробиоты факультативных анаэробов *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae;* n=36), 2-группа – с выраженным анаэробным дисбиозом (с преобладанием в микробиоте облигатных анаэробов; n=33) и 3-группа – с выраженным аэробно-анаэробным дисбиозом (n=31). В 1-группе использован метронидазол 200 мг и препарат аскорбиновой кислоты интравагинально по 7 дней; во 2-группе – клиндамицин гель и пробиотики 10 дней интравагинально; в 3-группе, учитывая смешанный состав микрофлоры с доминированием как анаэробной, так и аэробной микрофлоры – хлоргексидин и пробиотики местно 10 дней. Контрольныя микроскопия, проведенная через месяц после лечения случаев резистентности к проведенной терапии не выявила.

Как известно, самым хорошим показателем эффективности лечения такой полибактериальной инфекции, как БВ считается долгосрочная стабильность состава нормофлоры после лечения и отсутствие рецидивов. Учитывая это, нами проведено изучение состава микрофлоры спустя 3 и 6 месяцев после лечения.

Через 3 месяца после лечения в единичных случаях во всех группах появились жалобы и симптомы, характерные для БВ. При оценке характера нарушений микрофлоры влагалища получены результаты, указывающие на выраженный анаэробный (2 (5,3%) – в 1- и 4 (10,0%) – во2-группах) и аэробно-анаэробный (6 (18,7%) – в 3-группе) (рис.1), что совпадало с рецидивами БВ.

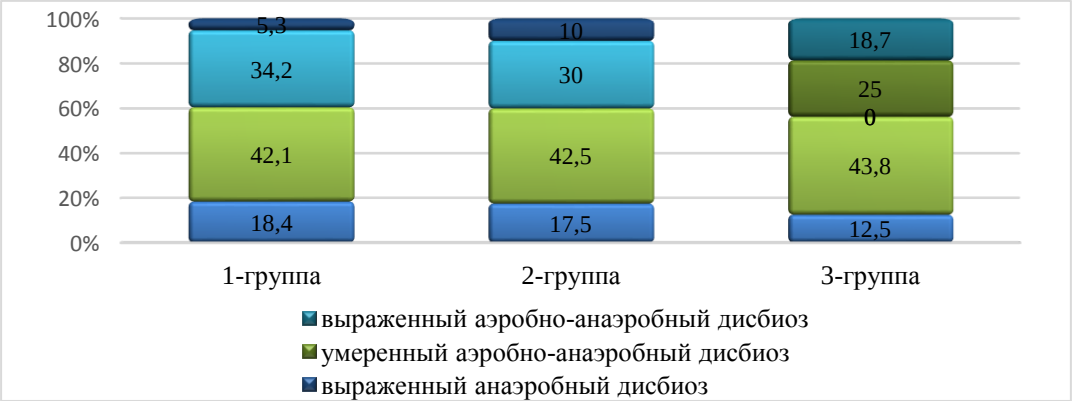

Рис. 1. Оценка микробиоты влагалища через 3 месяца после лечения (в %)

Изучение микробного содержания в группах после лечения выявило, что содержание основного бактериального маркера БВ – *A.vaginae* – ниже в было достоверно ниже во 2-группе по сравнению с 1-группой (p=0,043), что показывает эффективность клиндамицина в отношении этой бактерии. Содержание *Megasphaera/Veillonella/ Dialister spp.*, *Enterobacteriaceae spp.* и *Mycoplasma hominis* была выше в 3-группе по сравнению с двумя остальными группами женщин, применявших антибактериальные препараты (p<0,05). Данный ход событий можно прокомментировать тем, что хотя применение антисептиков считается эффективным в лечении БВ, исходно смешанный состав микрофлоры при данном варианте микробиоты с возможными трудноулавливаемыми межмикробными синергетическими отношениями препятствует достижению крепкого баланса между нормофлорой и условно-патогенной микрофлорой.

В случаях как с выраженным, так и умеренным дисбиозом нами проведена дополнительная противорецидивная терапия (ПТ) с применением про- и пребиотиков. Учитывая, что повторное применение антибактериальных препаратов в короткие сроки после лечения сопряжено с негативным влиянием на рост нормофлоры мы воздержались от их применения.

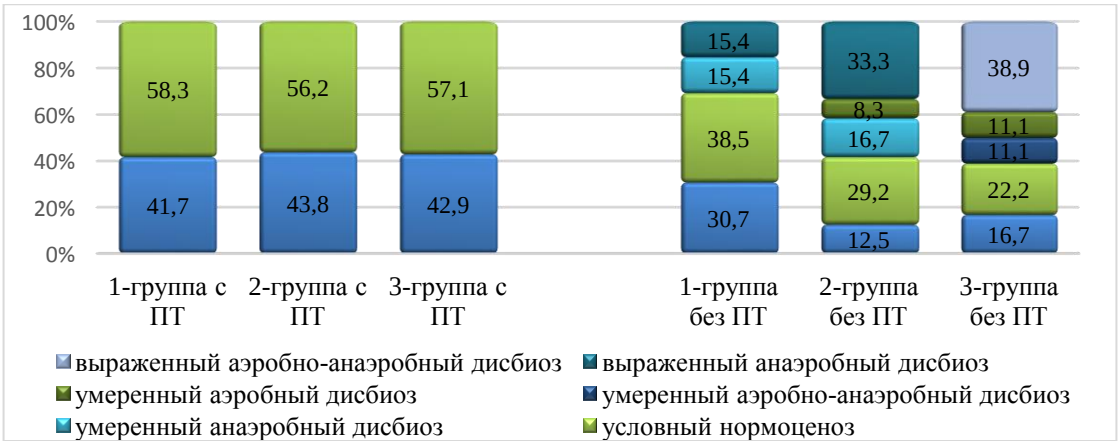

Рис. 2. Оценка микробиоты влагалища через 6 месяцев после лечения (в %)

Через 6 месяцев после лечения проведен клинико-микроскопический и микробиологический контроль. в группах женщин, применявших противорецидивную терапию микробиота влагалища во всех случаях соответствовала абсолютному и условному нормоценозу (рис. 2). В группах женщин не получавших противорецидивную терапию выявлены случаи выраженного дисбиоза. Анализ характера нарушений микрофлоры влагалища в случаях рецидива БВ показал, что все случаи рецидива были связаны с достоверно высокой концентрацией облигатных анаэробов *Sneathia/Leptotrichia/Fusobacterium spp.*, *Megasphaera/Veillonella/Dialister spp.*, *Lachnobacterium/Clostridium spp*. относительно контроля (p<0,01). В случаях с выраженным смешанным дисбиозом наряду с облигатными анаэробами превалировала и *Mycoplasma hominis* (p<0,05).

Увеличение частоты рецидива в отдаленном периоде во 2- и 3-группах относительно 1-группы, скорее может быть связано с образованием биопленок и включением в них массы разнообразной анаэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры в этих вариантах дисбиоза. В ряде работ показано, что образование биопленки при БВ является механизмом вирулентности, и это усиливает патогенность [6]. По данным ряда авторов бактериальные биопленки обусловливают затяжное течение процесса и склонность к его хронизации, приводят к неэффективности методов традиционной антимикробной терапии [5]. Биопленки на слизистых оболочках могут блокировать воспалительный ответ, и бактерии в биопленке не поддаются воздействию иммунной системы макроорганизма. Кроме этого, они сохраняют жизнеспособность микроорганизмов при концентрациях перекиси водорода и молочной кислоты в 4-8 раз более высоких, чем требуется для подавления отдельных бактерий вне пленок. Предполагается, что при воздействии антибиотика в пределах биопленки число резистентных микроорганизмов может быть изначально незначительным, но при повторном применении препаратов той же группы благодаря обмену плазмидами резистентности (передача резистентности от вида к виду) число резистентных бактерий увеличивается, что в результате приводит к быстрому заселению биопленки резистентными формами. Подтверждено наличие постоянной и адгезивной бактериальной биопленки *Atopobium vaginae* совместно с *Gardnerella vaginalis*, что может являться причиной отсутствия эффекта от лечения БВ при использовании метронидазола [5]. Таким образом, несмотря на выявленное большое разнообразие микрофлоры влагалища при бактериальном вагинозе присутствие определенных членов вагинального сообщества связано с неблагоприятными исходами лечения заболевания.

Заключение

Исходный состав микрофлоры при нарушении микробиоты влагалища у женщин с бактериальным вагинозом является полезным показателем, определяющим исходы лечения. Но более важными бактериальными маркерами, рещающими в плане реализации рецидива БВ являются низкое содержание лактобактерий и относительно высокое присутствие облигатных анаэробов в динамике после лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Мухамедов И.М., Халдарбекова Г.З. Индегенные лактобактерии вагинального микробиома у женщин фертильного возраста // Журнал биомедицины и практики. 2023;1(2):23-30.
2. Назарова В.В., Шипицына Е.В., Шалепо К.В., Савичева А.М. Бактериальные сообщества, формирующие микроэкосистему влагалища в норме и при бактериальном вагинозе // Журнал акушерства и женских болезней. 2017;66(6):30-43.
3. Савичева А.М., Тапильская Н.И., Крысанова А.А. и др. Отдаленные результаты двухэтапного лечения бактериального вагиноза с применением антисептиков и пробиотиков. //Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2021;9(4):19-28.
4. Alves P., Castro J., Sousa C., Cereija T., Cerca N. Gardnerella vaginalis outcompetes 29 other bacterial species isolated from patients with bacterial vaginosis, using in an in vitrobiofilm formation model. //J Infect Dis. 2014;210(4):593-596.
5. Bradshaw C.S., Sobel J.D. Current Treatment of Bacterial Vaginosis-Limitations and Need for Innovation. //J Infect Dis. 2016;214(1):14-20.
6. Castro J., Rosca A.S., Cools P., Vaneechoutte M., Cerca N. Gardnerella vaginalis enhances Atopobium vaginae viability in an in vitro model. //Front Cell Infect Microbiol. 2020;10:83.
7. Hardy L., Cerca N., Jespers V. et al. Bacterial biofilms in the vagina. //Res Microbiol. 2017;168(9-10):865-874.
8. Hickey R.J., Forney L.J. Gardnerella vaginalis does not always cause bacterial vaginosis. //J Infect Dis. 2014;210(10):1682-1683.
9. Janulaitiene M., Paliulyte V., Grinceviciene S. et al. Prevalence and distribution of Gardnerella vaginalis subgroups in women with and without bacterial vaginosis. //BMC Infect Dis.2017;17(1):394.
10. Muzny C.A., Blanchard E., Taylor C.M. et al. Identification of Key Bacteria Involved in the Induction of Incident Bacterial Vaginosis: A Prospective Study. //J Infect Dis. 2018;218(6):966–978.
11. Poole J., Day C.J., von Itzstein M., Paton J.C., Jennings M.P. Glycointeractions in bacterial pathogenesis. //Nat Rev Microbiol. 2018;16(7):440-452.

Поступила 20.06.2023