

## АТОРОБИУМ VAGINAE ВО ВЛАГАЛИЩНОЙ МИКРОБИОТЕ ДЕВОЧЕК ПРЕПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА

Рутинская А.В.<sup>1</sup>, Чайка А.В.<sup>1</sup>, Носенко Е.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинских проблем семьи Донецкого национального медицинского университета, Донецк, Украина (83003, Украина, Донецк, ул. Левицкого, 4), e-mail:chayka@dsmu.edu.ua

<sup>2</sup>Университетская клиника «Центр восстановительной и реконструктивной медицины» Одесского национального медицинского университета, Одесса, Украина (65009, Украина, Одесса, ул. Тенистая, 8), e-mail: nosenko.olena@gmail.com

Целью исследования стало изучение места и роли *Atopobium vaginae* в составе микробиоты влагалища у девочек препубертатного возраста как в норме, так и при наличии вагинального дисбиоза на современном этапе. Под наблюдением находилось 174 девочки в препубертатном периоде, которые были подразделены на две группы: основную группу О (n=134) с наличием дисбиоза влагалища различной степени, и контрольную группу К, представленную 40 девочками с нормальным влагалищным микробиоценозом и отсутствием каких-либо клинических проявлений вагинита. Исследование спектра влагалищной микробиоты проводили при помощи комплексной количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени при помощи тест-системы «Фемофлор-16» (Россия). Установлено, что во влагалищной микробиоте девочек препубертатного возраста условно-патогенный микроорганизм *Atopobium vaginae* встречается в норме в 7,50% случаев, при вагинальном дисбиозе – в 41,04%. В подавляющем числе случаев *Atopobium vaginae* сочетается с наличием *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*, и является бактерией, ассоциированной с вагинальным дисбиозом у девочек препубертатного возраста.

Ключевые слова: девочки, препубертатный возраст, вагинальная микробиота, вагинальный дисбиоз, *Atopobium vaginae*

## АТОРОБИУМ VAGINAE IN THE VAGINAL MICROBIOME OF PREPUBERTAL GIRLS

Rutinskaya A.V.<sup>1</sup>, Chayka A.V.<sup>1</sup>, Nosenko E.N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Medical Family Problems, Donetsk National Medical University, e-mail:chayka@dsmu.edu.ua

<sup>2</sup>University Hospital "Center of Reconstructive and Restorative Medicine" Odessa National Medical University

The aim of the study was to investigate the role and place of *Atopobium vaginae* in the vaginal microbiome in prepubertal girls both in health and in the presence of vaginal dysbiosis at the present stage. We observed 174 prepubertal girls, who were divided into two groups: the main group O (n = 134) with the presence of vaginal dysbiosis of different degrees, and the control group, represented by 40 girls with normal vaginal microbiome and the absence of any clinical manifestations of vaginitis. Investigation of vaginal microbiome spectrum was carried out using a complex quantitative PCR in real time using the test-system "Femoflor-16" (Russia). It was established that in the vaginal microbiome of prepubertal girls opportunistic pathogens occurs in health in 7.50% of cases, in vaginal dysbiosis - in 41.04%. In the majority of cases the *Atopobium vaginae* combined with the presence of *Gardnerella vaginalis / Prevotella bivia / Porphyromonas spp.*, and is a bacterium associated with vaginal dysbiosis in prepubertal girls.

Keywords: girls, prepubertal age, vaginal microbiome, vaginal dysbiosis, *Atopobium vaginae*

Данные о видовом составе вагинальной микробиоты девочек препубертатного возраста малочисленны и противоречивы. По данным И.В. Садолиной (2000) [2], изучившей микробиоценоз влагалища у здоровых девочек 5-8 лет, наиболее часто в качестве представителей аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры встречаются эпидермальный и сапрофитный стафилококки, реже – кишечная палочка и энтеробактерии, в единичных случаях – бифидобактерии.

Е.В.Уварова и соавт. (2006) считают, что характерным отличием вагинальной микрофлоры здоровой девочки препубертатного возраста от таковой пубертатного являются: отсутствие лактобактерий, преобладание бифидобактерий – до 84% [1], низкая обсемененность влагалищного содержимого микробами – в среднем  $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл, большее содержание кокковой флоры – стафило- и стрептококки до 78%. При микробиологическом и бактериологическом исследовании во влагалище определяются более 20 видов микроорганизмов при низкой общей микробной обсемененности ( $10^3$ - $10^5$  КОЕ/мл). Притом микроорганизмы сосуществуют в виде ассоциаций из 4-5 видов. В составе микроорганизмов доминируют бифидобактерии (84,2%). Лактобациллы в умеренном количестве появляются в возрасте после 8 лет. Среди факультативных анаэробов преобладают коагулазоотрицательные стафилококки (78,9%), стрептококки (78,9%) и коринебактерии (63,2%). Авторы отмечают низкое содержание строгих анаэробов (26,3% бактероидов и пептострептококков), других факультативных анаэробов (по 10,5% энтерококков и кишечной палочки), гарднерелл (10,5%) и микоплазм (5,3%).

Противоречивый характер исследований, проведенных по изучению влагалищной микробиоты у девочек препубертатного возраста связан как в норме, так и при дисбиозе в связи со сложностями диагностики [17].

Квалифицированное комплексное лабораторное обследование, полное выявление этиологической структуры заболевания позволяет своевременно устанавливать топический клинический диагноз, выявлять осложненные формы течения заболевания, и, соответственно, проводить направленную адекватную этиотропную терапию, в соответствии с принципом «необходимости и достаточности». В этой связи, в качестве скринингового метода диагностики состава биоты урогенитального тракта женщин предложена комплексная количественная оценка биоты методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с проведением сравнительного анализа конкретных представителей нормо- и условно-патогенной биоты с общим количеством микроорганизмов с целью выявления дисбаланса биоты, степени его выраженности и определения этиологической роли конкретных микроорганизмов в его развитии при условии контроля качества получения клинического образца для исследования [3]. Нами предложено использование этой методики оценки вагинальной микробиоты у девочек. Данный метод позволяет количественное определение такого условно-патогенного организма вагинальной микробиоты как *Atorobium vaginae*.

Слово «*Atorobium*», означающее по-гречески "странно живущее существо", был использован M.D. Collins, S. Wallbanks для описания нового бактериального рода в 1992 г., который переключифицировал *Lactobacillus Minutum*, *Lactobacillus rimaе* и *Streptococcus*

*parvulus* на основе их филогенетического родства, установленного при секвенировании гена 16S рРНК [7]. Виды *Atopobium* – грамположительные, анаэробные, неподвижные, неспорообразующие, эллиптические кокки или палочки, которые производят большое количество молочной кислоты [9, 15]. Бактерии этого рода встречаются в десневых щелях человека и были описаны при различных инфекционных поражениях, в том числе при стоматологических абсцессах, брюшных раневых инфекциях, абсцессах малого таза и бактериемии, а также как причина преждевременных родов и спонтанной родовой бактериемии [5, 10, 13, 14, 16].

В настоящее время установлено, что род состоит из пяти видов: *A. rimaе*, *A. parvulus*, *A. minutum*, *A. fossor*, *A. vaginae* [5, 7, 18]. *A. vaginae* впервые был выделен из вагинальной флоры здоровой женщины в 1999 году [9]. Впоследствии бактерию также обнаруживали у пациентов с бактериальным вагинозом, как правило, сосуществующую с другими анаэробными бактериями, такими как *G. vaginalis* [8, 10, 19] и считают одной из основных бактерий, ассоциированных с бактериальным вагинозом у женщин. Интересно, что среди бактерий, ассоциированных с бактериальным вагинозом у женщин, только *G. vaginalis* и *A. vaginae* были широко обнаружены у сексуально-неэкспонированных женщин [4]. Считается, что количественное определение *A. vaginae* особенно полезно при наиболее тяжелых случаях бактериального вагиноза [11], так как этот микроорганизм не отвечает на традиционную антианаэробную терапию метронидазолом.

Процесс, который изменяет относительно редкую вагинальную микрофлору здоровых женщин в плотную биопленку патогенных и условно-патогенных бактерий, мало изучен. Однако, проведенные экспериментальные исследования показали, что уропатогенные кишечные палочки формируют относительно тонкие биопленки в течение пяти дней (высотой 6 мкм), в то время как *A. vaginae* и *G. vaginalis* формируют биопленки толщиной 12 мкм в высоту в течение двух дней. Применение метронидазола приводит к формированию отверстий во влагиалищных биопленках с *A. vaginae* и *G. vaginalis*, но не искореняет эти микроорганизмы [12].

В связи с тем, что процесс идентификации *A. vaginae* затруднен при проведении традиционных методик выявления вагинальных бактерий, особенно в присутствии сосуществующих колонизирующих организмов, частота колонизации и инфицирование женских половых органов *A. vaginae* была, вероятно, недооценена в прошлом. В доступной литературе мы не нашли сведений о *A. vaginae* в микробиоте девочек, в том числе препубертатного возраста.

Целью исследования стало изучение места и роли *A. vaginae* в составе микробиоты влагалища у девочек препубертатного возраста как в норме, так и при наличии вагинального дисбиоза на современном этапе.

### **Материал методы исследования**

Под наблюдением находилось 174 девочки в препубертатном периоде, которые были поразделены на две группы : основную группу О (n=134) с наличием дисбиоза влагалища различной степени, и контрольную группу К, представленную 40 девочками с нормальным влагалищным микробиоценозом и отсутствием каких-либо клинических проявлений вагинита. Критериями отбора были: возраст от 5 до 13 лет; отсутствие менструаций; отсутствие хламидиоза, трихомониаза, гонореи, сифилиса, ВИЧ, гепатита В, эндокринных заболеваний.

Исследование спектра влагалищной микробиоты проводили при помощи комплексной количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени при помощи тест-системы «Фемофлор-16» (ДНК-технологии, Россия) в сертифицированной лаборатории ООО «Надия» (Украина).

Материалом для исследования методом комплексной количественной ПЦР был соскоб эпителиальных клеток, который забирался одноразовыми стерильными инструментами типа «Cytobrush» из заднего свода влагалища через гименальные кольца. С помощью комплексной количественной ПЦР оценивали: общую бактериальную массу (ОБМ), количество *Lactobacterium spp.* (ЛБ), количество условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) (факультативных и облигатных аэробов), *Candida spp.*, а также патогенного возбудителя *Mycoplasma genitalium*. Результаты микробиологического исследования оценивались по референсным нормам для тест-системы «Фемофлор-16» [4]. Рассчитывали абсолютные (в логарифмах полученных показателей ОБМ и УПМ ( $Lg_{10}$ ОБМ и  $Lg_{10}$ УПМ) показатели и частоту встречаемости микроорганизмов.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи компьютерного программного пакета Excel.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Средний возраст девочек в группе О составил  $8,93 \pm 0,24$  лет, в группе К –  $8,75 \pm 0,34$  лет,  $p > 0,05$ . В основной группе избыточные или патологические выделения из половых путей наблюдались у 56,72% пациенток, а в контроле только 6,15% девочек имели выделения из половых путей в виде незначительных белей,  $p < 0,01$ .

При анализе вагинальной микробиоты было установлено, что в основной группе ОБМ была больше по сравнению с контролем в 1,22 раза ( $Lg_{10}$ ОБМ:  $4,86 \pm 0,10$  против  $3,98 \pm 0,07$ ,  $p < 0,01$ ) (рис.1). ЛБ определялись у 7,50% девочек группы К (рис.2), при этом

количественный показатель варьировал от  $10^{2,2}$  до  $10^{4,1}$  КОЕ и в среднем  $Lg_{10}$ ЛБ составил  $0,23 \pm 0,13$ . В группе О лактобактерии были обнаружены у 8,96%, при этом  $Lg_{10}$ ЛБ в среднем был  $0,28 \pm 0,08$  ( $p > 0,05$ ).

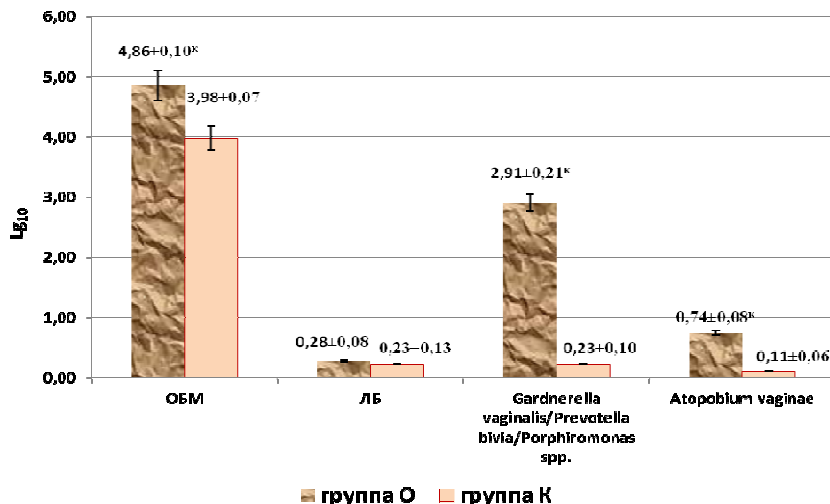


Рис. 1 Абсолютное содержание ОБМ, ЛБ, *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*, *A. vaginae* в вагинальной микробиоте обследованных девочек препубертатного возраста,  $M \pm m$  (в  $Lg_{10}$ ).

Примечание. <sup>к</sup> – достоверная разница с показателем группы К ( $p < 0,05$ ).

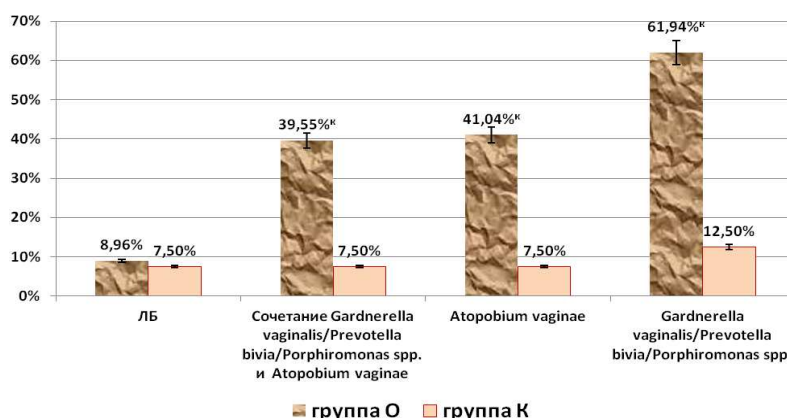


Рис. 2 Частота встречаемости ЛБ, *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*, *A. vaginae* и сочетания *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* и *A. vaginae* в вагинальной микробиоте обследованных девочек препубертатного возраста (в %).

Примечание. <sup>к</sup> – достоверная разница с показателем группы К ( $p < 0,05$ ).

Среди девочек с вагинальным дисбиозом по сравнению с пациентками контрольной группы *A. vaginae* в вагинальной микробиоте регистрировался чаще в 5,47 ( $p < 0,01$ ) раза (см. рис. 2), а количественное его содержание было выше в 6,73 ( $p < 0,01$ ) (см. рис. 1).

Среди девочек с наличием *A. vaginae* в вагинальной микробиоте в группе О он в 96,37% сосуществовал с *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.*, в группе К – в 100%.

## Выводы

Во влагалищной микробиоте девочек препубертатного возраста условно-патогенный микроорганизм *A. vaginae* встречается в норме в 7,50% случаев, при вагинальном дисбиозе – в 41,04%. В подавляющем числе случаев *A. vaginae* сосуществует с *Gardnerella vaginalis*/*Prevotella bivia*/*Porphyromonas* spp., и является бактерией, ассоциированной с вагинальным дисбиозом у девочек препубертатного возраста.

## Список литературы

1. Возрастные особенности диагностики и лечения бактериального вагиноза в детском и подростковом возрасте / [Уварова Е.В., Латыпова Н.Х., Муравьева В.В. и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 57-61.
2. Садолина И.В. Клинико-иммунологические критерии оценки полового и физического развития девочек: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М.: 2000. – 24 с.
3. Фемофлор. Урогенитальные инфекции, обусловленные условно-патогенной микробиотой у женщин репродуктивного возраста (Клинико-лабораторная диагностика): пособие для врачей / [Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г.] – М.: Российская академия последиplomного образования, Научно-производственная фирма ДНК-технология, 2010. – 30 с.
4. Bacterial vaginosis (BV) candidate bacteria: associations with BV and behavioural practices in sexually-experienced and inexperienced women / [Fethers K, Twin J., Fairley C.K. et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol.7, № 2. – e30633. doi: 10.1371/journal.pone.0030633.
5. Characterization of a novel *Atopobium* isolate from the human vagina: description of *Atopobium vaginae* sp. nov. / [Rodriguez Jovita M., Collins M.D., Sjöden B., Falsen E.] // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1999. – Vol.4. – P. 1573-1576.
6. Cloning of 16S rRNA genes amplified from normal and disturbed vaginal microflora suggests a strong association between *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis* and bacterial vaginosis / [Verhelst R., Verstraelen H., Claeys G. et al.] // BMC Microbiol. – 2004. – Vol. 4. – С. 16.
7. Collins M.D. Comparative sequence analyses of the 16S rRNA genes of *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus rimaе* and *Streptococcus parvulus*: proposal for the creation of a new genus *Atopobium* / Collins MD, Wallbanks S. // FEMS Microbiol. – 1992. – Lett.74. – P. 235-240.
8. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in non-pregnant women / [Mitchell C.M., Haick A., Nkwopara E. et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2014. – Dec 15. pii: S0002-9378(14)02438-7. doi: 10.1016/j.ajog.2014.11.043.

9. Comparison of clinical and microbiological features of vulvovaginitis in prepubertal and pubertal girls / [Yilmaz A.E, Celik N., Soylu G. et al.] // J. Formos Med. Assoc. – 2012. – Vol. 111, № 7. – C. 392-396. doi: 10.1016/j.jfma.2011.05.013.
10. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age--sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? / [Shipitsyna E., Roos A., Datcu R. et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, № 4. – e60670. doi: 10.1371/journal.pone.0060670.
11. Correlation of Atopobium vaginae Amount With Bacterial Vaginosis Markers / [Marconi C, Cruciani F., Vitali B., Donders G.G. // J. Low Genit. Tract. Dis. – 2012. – Vol.16, № 2. – P. 127-132. doi: 10.1097/LGT.0b013e31823c79c4. 5
12. Disruption of urogenital biofilms by lactobacilli / [McMillan A, Dell M., Zellar M.P.et al.] // Colloids Surf. B. Biointerfaces. – 2011. – Vol. 86, № 1. – P. 58-64. doi: 10.1016/j.colsurfb.2011.03.016.
13. First report of Atopobium vaginae bacteremia with fetal loss after chorionic villus sampling / [Knoester M., Lashley L.E., Wessels E. et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49. – C. 1684-1686.
14. First report of spontaneous intrapartum Atopobium vaginae bacteremia // [Chan J.F, Lau S.K., Curreem S.O. et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2012. – Vol. 50, № 7. – P. 2525-8. doi: 10.1128/JCM.00212-12.
15. Geissdörfer W, et al. 2003. Tuboovarian abscess caused by Atopobium vaginae following transvaginal oocyte recovery / [Geissdörfer W., Böhmer C., Pelz K. et ai.] // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol.41, № 6. – P. 2788-90.
16. High vaginal concentrations of Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis in women undergoing preterm labor / [Menard J.P., Mazouni C., Salem-Cherif I. et al.] // Obstet. Gynecol. – 2010. – Vol.115, № 1. – P. 134-140. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181c391d7.
17. Microbiological findings in prepubertal girls with vulvovaginitis / [Sikanić-Dugić N, Pustisek N., Hirsl-Hećej V., Lukić-Grlić A.] // Acta Dermatovenerol Croat. – 2009. – Vol. 17, № 4. – C. 267-272.
18. Phylogenic and phenotypic evidence for the transfer of Eubacterium fossor to the genus Atopobium as Atopobium fossor comb. nov. / [Kageyama A., Benno Y., Nakase T.] // Microbiol. Immunol. – 1999. – Vol.43. – C. 389-395.
19. Vaginal microbiome in women from Greenland assessed by microscopy and quantitative PCR / [Datcu R., Gesink D., Mulvad G. et al.] //BMC Infect Dis. – 2013. – Vol.13. – C. 480. doi: 10.1186/1471-2334-13-480.

20. Wang K.D. Quantification of *Atopobium vaginae* loads may be a new method for the diagnosis of bacterial vaginosis / Wang K.D., Su J.R. // Clin Lab. – 2014. – Vol. 60, № 9. – С. 1501-8.

**Рецензенты:**

Яковлева Э.Б., д.м.н., профессор, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии, Донецкий национальный медицинский университет, г. Донецк;

Говоруха И.Т., д.м.н., профессор, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии, Донецкий национальный медицинский университет, г. Донецк.