

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья
УДК 618.15-002.2
doi: 10.29039/1992-6499-2023-2-104-109

1.5.11. Микробиология (медицинские науки)
3.1.4. Акушерство и гинекология (медицинские науки)

**К ВОПРОСУ ОБ ОЦЕНКЕ КУЛЬТУРОМА БИОПТАТА ШЕЙКИ МАТКИ
У ПАЦИЕНТКИ С ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ
УМЕРЕННОЙ СТЕПЕНИ**

*Светлана Михайловна Чечко¹, Артем Викторович Лямин²,
Анна Владимировна Казакова², Наталья Владимировна Сапожкова¹

¹Городская клиническая больница № 2 имени Н.А. Семашко, Самара, Россия

²Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Аннотация. В последние годы активно обсуждается роль микроценоза в возникновении и прогрессировании патологии различных органов, в том числе и рака шейки матки. **Цель:** изучить цервикальную микрофлору у пациентки с умеренной дисплазией шейки матки. **Материалы и методы исследования.** Проведено расширенное микробиологическое исследование культуромов слизистой оболочки цервикального канала и биоптата шейки матки у пациентки с дисплазией шейки матки умеренной степени. Микроценоз биоптата шейки матки изучали с использованием MALDI-ToF масс-спектрометра (Bruker). Биоценоз цервикального канала исследовали на основании метода полимеразно-цепной реакции, тест-системы Digene HPV test и бактериологического исследования. **Результаты исследования.** В биоптате шейки матки была обнаружена нетипичная для цервикального биотопа микрофлора. В частности, в ткани шейки матки обнаружены микроорганизмы, которые могут являться причиной развития патологии полости рта (*Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus sanguinis*) или кишечного дисбиоза (*Alloscardovia omnicoles*). При этом в слизистой оболочке цервикального канала указанные бактерии не обнаружены. **Заключение.** Необходимы дальнейшие исследования для понимания причин и последствий различий биоценоза в измененной ткани шейки матки и цервикальном канале.

Ключевые слова: дисплазия шейки матки, вирус папилломы человека, биоценоз цервикального канала и ткани шейки матки

Для цитирования: Чечко С. М., Лямин А. В., Казакова А. В., Сапожкова Н. В. К вопросу об оценке культурома биоптата шейки матки у пациентки с цервикальной интраэпителиальной дисплазией умеренной степени // Астраханский медицинский журнал. 2023. Т. 18, № 2. С. 104–109. doi: 10.29039/1992-6499-2023-2-104-109.

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Original article

**TO THE QUESTION OF THE ASSESSMENT OF THE CERVICAL BIOPTY CULTUROME
IN A PATIENT WITH MODERATE CERVICAL INTRAEPITHELIAL DYSPLASIA**

Svetlana M. Chechko¹, Artem V. Lyamin², Anna V. Kazakova², Natalya V. Sapozhkova¹

¹Municipal Clinical Hospital No. 2 named after N.A. Semashko, Samara, Russia

²Samara State Medical University, Samara, Russia

Abstract. In recent years, the role of microcenosis in the occurrence and progression of the pathology of various organs, including cervical cancer, has been actively discussed. **Purpose:** to study the cervical microflora in a patient with moderate cervical dysplasia. **Material and research methods.** An extended

* © Чечко С.М., Лямин А.В., Казакова А.В., Сапожкова Н.В., 2023

microbiological study of cervical mucosal cultures and cervical biopsy was performed in a patient with moderate cervical dysplasia. Cervical biopsy microecology was studied using a MALDI-ToF mass spectrometer (Bruker). The biocenosis of the cervical canal was studied on the basis of the polymerase chain reaction method, the Digene HPV test system test and bacteriological examination. **Research results.** In the biopsy specimen of the cervix, a microflora not typical for the cervical biotope was found. In particular, microorganisms were found in the tissue of the cervix, which can cause the development of pathology of the oral cavity (*Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus sanguinis*) or intestinal dysbiosis (*Alloscardovia omnicolens*). At the same time, these bacteria were not found in the mucous membrane of the cervical canal. **Conclusion.** Further research is needed to understand the causes and consequences of biocenosis differences in the altered tissue of the cervix and cervical canal.

Key words: cervical dysplasia, human papillomavirus, biocenosis of the cervical canal and cervical tissue

For citation: Checko S. M., Lyamin A. V., Kazakova A. V., Sapozhkova N. V. To the question of the assessment of the cervical biopsy culture in a patient with moderate cervical intraepithelial dysplasia. *As-trakhan Medical Journal*. 2023; 18 (2): 104–109. doi: 10.29039/1992-6499-2023-2-104-109 (In Russ.).

Введение. Известно, что вирус папилломы человека (ВПЧ) является возбудителем, ответственным за 99 % случаев возникновения рака шейки матки [1]. Существуют убедительные основания для предположения о том, что изменения в цервикально-вагинальном бактериальном микробиоме способствуют персистенции ВПЧ-инфекции с дальнейшим развитием предраковых поражений шейки матки [2]. Известно также, что инфицирование ВПЧ не всегда приводит к канцерогенезу [2, 3]. Наличие представителей рода *Lactobacilli* является частью защитного механизма, присутствующего в микроокружении влагалища [4]. Многие исследования свидетельствуют о том, что дисбиоз, при наличии цервикальной интраэпителиальной дисплазии, связан с повышенной вирусной нагрузкой ВПЧ [1]. Несмотря на быстро накапливающиеся данные о характере вагинального микробиома, при наличии предраковых процессов шейки матки, уровень его влияния на течение заболевания до конца не изучен и представляет большой интерес [5, 6].

Цель: изучить цервикальную микрофлору у пациентки с умеренной дисплазией шейки матки.

Материалы и методы исследования. Для изучения цервикальной микрофлоры у пациентки с дисплазией шейки матки умеренной степени было проведено микробиологическое исследование культуромов слизистой оболочки цервикального канала и биоптата шейки матки. Данный метод диагностики, а именно – изучение микрофлоры биоптата шейки матки, впервые предложен и ранее не использовался (патент РФ на изобретение № 2784053).

Материал из шейки матки отбирали стерильным тампоном. С целью оптимизации забора биоптата шейки матки на посев предложен новый инструмент – конхотом гинекологический с эндовидеоконтролем, который позволяет оптимизировать процесс прицельной биопсии шейки матки (патент РФ на полезную модель № 213605). Инструмент внедрен и используется в Городской клинической больнице № 2 имени Н.А. Семашко (Самара).

После забора пробы помещали в жидкую транспортную питательную среду Эймса и доставляли в лабораторию в течение 2 часов в изотермических условиях. В лаборатории материал засеивали на плотные питательные среды: 5 % кровяной агар («HiMedia», Индия), анаэробный агар («HiMedia», Индия), агар для выделения вейлонелл («HiMedia», Индия), агар для выделения клостридий («HiMedia», Индия), агар для выделения бифидобактерий («HiMedia», Индия), агар для выделения лактобактерий (HiMedia, Индия), универсальная хромогенная среда («Bio-Rad», США). Посевы инкубировали в течение 5 суток в аэробных и анаэробных условиях. Анаэробные условия создавали с использованием газогенерирующих пакетов («ИНКО», Россия). Идентификацию всех морфотипов колоний осуществляли с использованием «MALDI-ToF» масс-спектрометра («Bruker», Германия). Исследование на ВПЧ проводили с использованием тест-системы «Digene HPV test».

Результаты исследования. Клинический диагноз пациентки, у которой была изучена цервикальная микрофлора, был следующим: «Цервикальная интраэпителиальная дисплазия умеренной степени. Хронический цервицит. Хронический тонзиллит». Из анамнеза жизни пациентки известно: сексуальные отношения начались с 18 лет, беременностей не было, ранее диагностирована хламидийная инфекция, проведено специфическое лечение с положительным эффектом, подтвержденным результатом полимеразной цепной реакции (ПЦР). В связи с появлением жалоб на сухость и жжение во влагалище, связанные, по мнению пациентки, с появлением нового полового партнера, обратилась за медицинской помощью к акушеру-гинекологу. Было исключено наличие ВИЧ-инфекции, сифилиса,

инфекций, передаваемых половым путем (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoea*). Проведена местная (интравагинальная) противовоспалительная терапия. Хроническим тонзиллитом пациентка страдает с подросткового возраста, обострения отмечает 1 раз в 2–3 месяца, наблюдается у оториноларинголога.

По результатам цитологического исследования выявлены интраэпителиальные изменения низкой степени (LSIL). При ПЦР обнаружен 16 тип ВПЧ. Относительный Lg (X/КВМ) 7.7. Заключение расширенной кольпоскопии: аномальная кольпоскопическая картина 2 степени – выраженное поражение (плотный ацетобелый эпителий с четкими контурами, лейкоплакия, йод-негативная зона, воспаление). Нативный мазок на флору показал наличие 2 степени чистоты влагалища. По результатам прицельной биопсии шейки матки получено морфологическое заключение: CIN II, хронический активный цервицит.

Пациентка направлена на стационарное лечение для выполнения электрорадиохирургической высокочастотной конизации шейки матки и выскабливания цервикального канала.

При осмотре влагалища в зеркалах: шейка матки конической формы, без дефектов эпителиального покрова, наружный зев округлой формы. Бимануальное исследование показало, что матка не увеличена, плотная, подвижная, безболезненная, придатки с обеих сторон не пальпируются, безболезненные. Своды свободные, глубокие. Инфильтратов в малом тазу нет. Выделения слизистые.

Для изучения цервикальной микрофлоры взят посев из цервикального канала и посев биоптата шейки матки.

В асептических условиях произведена обработка наружных половых органов. Стерильным тампоном взят посев из цервикального канала, далее с помощью конхотома гинекологического с эндовидеоконтролем взята ткань шейки матки размером 2 × 2 мм в йод-негативной зоне. Материал помещен в специальные среды для транспортировки. После обработки внутренних половых органов выполнена электрорадиохирургическая высокочастотная конизация шейки матки и выскабливание цервикального канала, гемостаз достигнут с помощью пуговчатого зонда. Осложнений нет. Материал был отправлен в лабораторию и помещен на специальные питательные среды. Ткань шейки матки отправлена на гистологическое исследование. Полученные результаты представлены в таблице.

Таблица. Микрофлора, высеянная из цервикального канала и удаленной ткани шейки матки
Table. Microflora sown from the cervical canal and the removed tissue of the cervix

Выделенный микроорганизм	Посев из цервикального канала КОЕ/мл	Посев биоптата шейки матки КОЕ/мл
<i>Lactobacillus gasseri</i>	10 ⁶	10 ⁴
<i>Lactobacillus crispatus</i>	10 ⁶	10 ⁴
<i>Lactobacillus fermentum</i>	10 ⁵	10 ⁴
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁵	10 ⁵
<i>Photobacterium iliopiscisrium</i>	10 ³	–
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ³	–
<i>Rothia dentocariosa</i>	10 ⁴	–
<i>Streptococcus oralis</i>	–	10 ⁴
<i>Streptococcus mitis</i>	–	10 ⁴
<i>Streptococcus anginosus</i>	–	10 ⁴
<i>Streptococcus sanguinis</i>	–	10 ⁴
<i>Alloscardovia omnicoles</i>	–	10 ⁴

Обсуждение. В исследовании впервые изучен микроценоз биоптата шейки матки с использованием «MALDI-ToF» масс-спектрометра («Bruker», Германия). Полученные результаты актуализируют выбор способа сбора материала при проведении микробиологического исследования микрофлоры внутренних половых органов у женщин. Использование для прицельной биопсии шейки матки конхотома гинекологического с эндовидеоконтролем значительно облегчает процесс забора материала и имеет ряд преимуществ: инструмент портативный, им можно работать в амбулаторных условиях, не имея кольпоскопа.

Примечательными являются различия в качественном и количественном составе микрофлоры между цервикальным каналом и биоптатом шейки матки. Полученные в результате исследования различия необходимо учитывать как при прогнозе развития основного заболевания, так и при оценке роли выделенной микрофлоры в развитии патологических изменений слизистой оболочки шейки матки. Выделение из биоптата шейки матки микрофлоры, являющейся причиной развития патологии полости рта (*Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus sanguinis*), является

важным результатом диагностического поиска. В последние годы в научной литературе появились публикации, посвященные выделению данной группы микроорганизмов из половых органов и мужчин, и женщин [7, 8]. При этом активно обсуждается роль данных микроорганизмов в патологических процессах половых органов. Одной из причин возрастающей роли данной группы микроорганизмов можно назвать широкое распространение в обществе незащищенных половых орально-генитальных контактов. С другой стороны, широкое внедрение в практическую деятельность акушерско-гинекологической службы методов ПЦР-исследования микрофлоры половых органов значительно сократило использование классического микробиологического метода, который в последнее десятилетие претерпел значительные изменения с точки зрения как качества, так и спектра идентификации микроорганизмов. В связи с этим встает вопрос о необходимости гармонизации лабораторных методов с потребностями врачей клинических специальностей для повышения качества проведения микробиологических исследований.

Полученные в представленном исследовании результаты, возможно, связаны с тем, что пациентка не использует барьерные способы контрацепции при орально-генитальных сексуальных контактах, а также имеет хронический тонзиллит с выделением стрептококковой микрофлоры, которая может адгезироваться на эпителии шейки матки с последующим проникновением в слизистую оболочку. Другой микроорганизм, выделенный из биоптата – *Alloscardovia omnicolens*, в норме обнаруживается в содержимом желудочно-кишечного тракта и ротовой полости человека, однако его выявление в ткани шейки матки является нехарактерным, его роль в микробиоценозе полового тракта остается не до конца изученной [9, 10]. Учитывая инвазию вышеперечисленных микроорганизмов в клетки шейки матки, можно предположить, что они оказывают определенное влияние на прогрессирование дисплазии в её ткани. Следует отметить, что в посевах из цервикального канала данная флора высеяна не была. Еще один комменсал полости рта и верхних дыхательных путей – *Rothia dentocariosa* – был выделен со слизистой оболочки цервикального канала, однако в биоптате обнаружен не был. Значительное микробное разнообразие, полученное при использовании микробиологического метода в современном исполнении, требует определенной переоценки клинического значения целого ряда микроорганизмов, обнаружение которых в клиническом материале с помощью стандартных диагностических тест-систем не представляется возможным. Особенно с учетом выделения на слизистой оболочке шейки матки значительного числа представителей рода *Lactobacillus* в высоких титрах и верифицированного морфологически диагноза «хронический активный цервицит».

Представленные по одному клиническому случаю данные не являются единственными в плане изучения микробиоценоза биоптата шейки матки. Проведено обследование 17 пациенток с патологией шейки матки, во всех случаях из биопсийного материала была выделена микрофлора, отличающаяся от микрофлоры, полученной в результате микробиологического исследования мазков со слизистой оболочки шейки матки.

Заключение. По результатам представленных данных можно сделать следующие выводы:

1. Характер вагинальной флоры претерпевает значительные трансформации за счет изменения полового поведения пациентов.
2. Способ забора материала имеет определяющее значение для получения достоверного результата, а использование конхотома гинекологического с эндовидеоконтролем значительно облегчает процесс проведения биопсии.
3. Углубленное изучение вагинальной микрофлоры необходимо для определения способов лечения или выявления новых биомаркеров заболеваний, связанных с вирусом папилломы человека.

Раскрытие информации. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Андосова Л. Д., Контрощикова К. Н., Шахова К. А. Состав микробиоценоза урогенитального тракта и количественные особенности папилломавирусной инфекции в зависимости от тяжести ВПЧ-ассоциированного цервикального поражения // Медицинский альманах. 2018. Т. 2, № 53. С. 23–26.
2. Ilhan Z. E., Łaniewski P., Thomas N., Roe D. J., Chase D. M., Herbst-Kralovetz M. M. Deciphering the complex interplay between microbiota, HPV, inflammation and cancer through cervicovaginal metabolic profiling // EBio-Medicine. 2019. Vol. 44. P. 675–690.
3. Shulzhenko N., Lyng H., Sanson G. F., Morgun A. Ménage à trois : an evolutionary interplay between human papillomavirus, a tumor, and a woman // Trends in microbiology. 2014. Vol. 22, no 6. P. 345–353.
4. Linhares I. M., Summers P. R., Larsen B., Giraldo P. C., Witkin S. S. Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli // American journal of obstetrics and gynecology. 2011. Vol. 204, no 2. 120.e1-5.
5. Говорун В. М., Шкарупета М. М., Портнова Н. И., Байцур М. В. Папилломавирусная инфекция : пособие для врачей / под ред. В. М. Говоруна. М. : НПФ «Литех», 2009. 55 с.
6. Kyrgiou M., Mitra A., Moscicki A. B. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? // Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine. 2016. Vol. 179. P. 168–182.
7. Dubois C., Liegeon A. L., Fabbro C., Truchetet F. Urétrite à Neisseria meningitidis : deux cas [Neisseria meningitidis urethritis : Two case reports] // Annales de dermatologie et de venereology. 2017. Vol. 144, no 10. P. 621–623.
8. Heldt Manica L. A., Cohen P. R. Streptococcus dysgalactiae-associated penile bacterial disease in an elderly man acquired by fellatio : case report and literature review of penile and perianal Streptococcus dysgalactiae in men acquired by anilingus and fellatio // Dermatology online journal. 2018. Vol. 24, no 8. 13030/qt2d56d6d0.
9. Cardona-Benavides I., Puertas-Prieto A., Pinilla-Martín F. J., Navarro-Marí J. M., Gutiérrez-Fernández J. Alloscardovia omnicoles emerging presence in premature rupture of membranes // The new microbiologica. 2019. Vol. 42, no 4. P. 237–239.
10. Mahlen S. D., Clarridge J. E. 3rd. Site and clinical significance of Alloscardovia omnicoles and Bifidobacterium species isolated in the clinical laboratory // Journal of clinical microbiology. 2009. Vol. 47, no 10. P. 3289–3293.

References

1. Andosova L. D., Kontorshchikova K. N., Shakhova K. A. Sostav mikrobiotsenoza urogenital'nogo trakta i kolichestvennye osobennosti papillomavirusnoy infektsii v zavisimosti ot tyazhesti VPCh-assotsirovannogo tservikal'nogo porazheniya. Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac. 2018; 2 (53): 23–26. (In Russ.).
2. Ilhan Z. E., Łaniewski P., Thomas N., Roe D. J., Chase D. M., Herbst-Kralovetz M. M. Deciphering the complex interplay between microbiota, HPV, inflammation and cancer through cervicovaginal metabolic profiling // EBio-Medicine. 2019; 44: 675–690.
3. Shulzhenko N., Lyng H., Sanson G.F., Morgun A. Ménage à trois: an evolutionary interplay between human papillomavirus, a tumor, and a woman // Trends in microbiology. 2014; 22 (6): 345–353.
4. Linhares I. M., Summers P. R., Larsen B., Giraldo P. C., Witkin S. S. Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli // American journal of obstetrics and gynecology. 2011; 204 (2): 120.e1-5.
5. Govorun V. M., Shkarupeta M. M., Portnova N. I., Baysur M. V. Papillomavirusnaya infektsiya: posobie dlya vrachey / pod red. Govoruna V. M. M.: NPF «Litekh», 2009. 55 p. (In Russ.).
6. Kyrgiou M., Mitra A., Moscicki A. B. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? // Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine. 2016; 179: 168–182.
7. Dubois C., Liegeon A. L., Fabbro C., Truchetet F. Urétrite à Neisseria meningitidis : deux cas [Neisseria meningitidis urethritis: Two case reports] // Annales de dermatologie et de venereology. 2017; 144 (10): 621–623.
8. Heldt Manica L. A., Cohen P. R. Streptococcus dysgalactiae-associated penile bacterial disease in an elderly man acquired by fellatio: case report and literature review of penile and perianal Streptococcus dysgalactiae in men acquired by anilingus and fellatio // Dermatology online journal. 2018; 24 (8): 1–6.
9. Cardona-Benavides I., Puertas-Prieto A., Pinilla-Martín F. J., Navarro-Marí J. M., Gutiérrez-Fernández J. Alloscardovia omnicoles emerging presence in premature rupture of membranes // The new microbiologica. 2019; 42 (4): 237–239.
10. Mahlen S. D., Clarridge J. E. 3rd. Site and clinical significance of Alloscardovia omnicoles and Bifidobacterium species isolated in the clinical laboratory // Journal of clinical microbiology. 2009; 47 (10): 3289-3293.

Информация об авторах

С.М. Чечко, врач акушер-гинеколог отделения оперативной гинекологии, Городская клиническая больница № 2 имени Н.А. Семашко, Самара, Россия, e-mail: svetlana-chechko92@mail.ru.

А.В. Лямин, доктор медицинских наук, доцент, заведующий микробиологическим отделом КДЛ, Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия, e-mail: avlyamin@rambler.ru.

А.В. Казакова, доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии института педиатрии, Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия, e-mail: a.v.kazakova@samsmu.ru.

Н.В. Сапожкова, заведующая отделением оперативной гинекологии, Городская клиническая больница № 2 имени Н.А. Семашко, Самара, Россия, e-mail: sapozhkova.natalya@bk.ru.

Information about the authors

C.M. Chechko, obstetrician-gynecologist, Department of Operative Gynecology, Municipal Clinical Hospital No. 2 named after N.A. Semashko, Samara, Russia, e-mail: svetlana-chechko92@mail.ru.

A.V. Lyamin, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Microbiological Department of the CDL, Samara State Medical University, Samara, Russia, e-mail: avlyamin@rambler.ru.

A.V. Kazakova, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Pediatrics, Samara State Medical University, Samara, Russia, e-mail: a.v.kazakova@samsmu.ru.

N.V. Sapozhkova, Head of the Department of Operative Gynecology, Municipal Clinical Hospital No. 2 named after N.A. Semashko, Samara, Russia, e-mail: sapozhkova.natalya@bk.ru.*

* Статья поступила в редакцию 15.09.2022; одобрена после рецензирования 26.01.2023; принята к публикации 16.06.2023.

The article was submitted 15.09.2022; approved after reviewing 26.01.2023; accepted for publication 16.06.2023.