

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ ВЛАГАЛИЩА В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ В АНАМНЕЗЕ

© А.А. Снякова, Е.В. Шипицына, О.В. Будилловская, З.М. Мартикайнен, А.Н. Григорьев, В.М. Болотских, А.М. Савичева

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Для цитирования: Снякова А.А., Шипицына Е.В., Будилловская О.В., и др. Особенности микрофлоры влагалища в первом триместре у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе // Журнал акушерства и женских болезней. — 2018. — Т. 67. — № 5. — С. 32–41. doi: 10.17816/JOWD67532-41

Поступила в редакцию: 04.09.2018

Принята к печати: 18.10.2018

■ **Актуальность.** Дисбиоз влагалища относится к факторам риска невынашивания беременности. Анализ микрофлоры влагалища во время беременности у женщин с невынашиванием в анамнезе может способствовать пониманию значимости определенных видов вагинальной микрофлоры в развитии процессов, приводящих к самопроизвольному прерыванию беременности или преждевременным родам.

**Цель** — выявить особенности микробиоценоза влагалища в первом триместре у беременных с невынашиванием в анамнезе.

**Материалы и методы исследования.** В исследовании участвовали 160 женщин в первом триместре беременности. В первую группу вошли 100 женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. Вторую группу составили 60 женщин без невынашивания беременности в анамнезе. Проведено клиническое и микробиологическое обследование пациенток. Микрофлору влагалища исследовали микроскопическим, бактериологическим методами и методом количественной ПЦР в реальном времени.

**Результаты исследования.** У пациенток с невынашиванием беременности в анамнезе частота дисбиотических нарушений была в три раза выше (11,0 и 3,3 %) и отмечены более высокие значения pH вагинального отделяемого. На фоне значительных различий в доле лактобациллярной микрофлоры у пациенток первой группы в первом триместре беременности отмечалось значимое увеличение частоты выделения условно-патогенных микроорганизмов, при этом доминировали представители аэробной микрофлоры: *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* Также у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе выявлено значительное преобладание *Ureaplasma spp.* и дрожжеподобных грибов *Candida spp.*

**Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о дисбиотических изменениях микрофлоры влагалища в первом триместре беременности у женщин с невынашиванием в анамнезе, что может служить причиной самопроизвольного прерывания беременности на поздних сроках и преждевременных родов.

■ **Ключевые слова:** микробиоценоз влагалища; невынашивание беременности; лактобациллы; аэробные бактерии; дисбиотические нарушения.

## VAGINAL MICROBIOTA IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY IN WOMEN WITH A HISTORY OF MISCARRIAGE

© А.А. Sinyakova, E.V. Shipitsyna, O.V. Budilovskaya, Z.M. Martikainen, A.N. Grigoryev, V.M. Bolotskikh, A.M. Savicheva

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

For citation: Sinyakova AA, Shipitsyna EV, Budilovskaya OV, et al. Vaginal microbiota in the first trimester of pregnancy in women with a history of miscarriage. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2018;67(5):32-41. doi: 10.17816/JOWD67532-41

Received: 04.09.2018

Accepted: 18.10.2018

■ **Hypothesis/aims of study.** Dysbiotic disorders of the vagina are one of the main risk factors of miscarriage. The analysis of vaginal microbiota during pregnancy in women having a history of miscarriage may contribute to understanding the importance of specific types of vaginal flora in the development of processes resulting in spontaneous abortion or preterm birth. This study was undertaken to evaluate the vaginal flora in the 1<sup>st</sup> trimester of pregnancy in women having a history of miscarriage.

**Study design, materials, and methods.** To participate in the study, 160 individuals in the 1st trimester of pregnancy with and without a history of miscarriage were invited. Group 1 included 100 women with a history of miscarriage, group 2 consisted of 60 women without a history of miscarriage. The vaginal flora was analyzed with microscopic, bacteriological, and quantitative real-time PCR methods.

**Results.** In patients with a history of miscarriage, the frequency of dysbiotic disorders of the vaginal flora was three times higher (11.0% and 3.3%) and pH value of the vaginal fluid was significantly higher. Along with a significant reduction of the proportion of the *Lactobacillus* flora in the 1st trimester of pregnancy in patients having a history of miscarriage, there was a significant increase in the abundance of opportunistic microorganisms, mostly aerobic flora, such as *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, and *Staphylococcus spp.* Furthermore, there was a significant predominance of *Ureaplasma spp.* and *Candida spp.* in women with a miscarriage history.

**Conclusion.** The vaginal microbiota in the 1st trimester of pregnancy in women having a history of miscarriage is characterized by higher pH values of the vaginal fluid, the prevalence of opportunistic microorganisms, a decrease in the abundance of the *Lactobacillus* flora, and a higher concentration of aerobic bacteria, *Ureaplasma spp.*, and *Candida spp.* These findings indicate dysbiotic disorders of the vaginal microbiocenosis in women having a history of miscarriage, which can lead to late miscarriage and preterm birth.

■ **Keywords:** vaginal microbiota; miscarriage; lactobacilli; aerorobic bacteria; dysbiotic disorders.

## Введение

Невынашивание беременности представляет собой одну из наиболее сложных проблем практического акушерства. Частота данного осложнения беременности остается стабильно высокой и составляет 10–25 % от всех беременностей. Генитальные инфекции являются одним из основных этиологических факторов досрочного прерывания беременности. На протяжении многих лет значимая роль в досрочном прерывании беременности принадлежала инфекциям, передающимся половым путем. В современных условиях большое внимание в этиологии восходящего инфицирования эндометрия у женщин с невынашиванием беременности уделяется дисбиозу влагалища с преобладанием условно-патогенной микрофлоры [1–4].

Вклад инфекционного фактора в развитие разных форм невынашивания беременности различен. Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют, что роль инфекции в прерывании беременности на ранних сроках незначительна [5]. В то же время внутриамниотическая инфекция служит причиной примерно 40 % всех случаев преждевременных родов [6] и 60–70 % случаев позднего самопроизвольного выкидыша [7]. Это подтверждается частотой острого хориоамнионита при преждевременных родах: 94 % случаев — между 21-й и 24-й неделями беременности, 40 % — между 29-й и 32-й неделями, 35 % — между 25-й и 28-й неделями, 11 % — между 33-й и 36-й неделями, 4 % — между 37-й и 40-й неделями [8].

Вагинальный микробиом — многокомпонентная по видовому составу экосистема, которая насчитывает более 300 видов микроорганизмов. Лактобациллы доминируют в ваги-

нальной среде здоровых женщин. С использованием метагеномного анализа установлено наличие в вагинальном микробиоме около 20 видов лактобацилл [9]. При этом преобладают четыре вида группы *Lactobacillus acidophilus*: *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri* и *L. iners* [10]. В состав нормальной микрофлоры влагалища в небольшом количестве могут входить представители условно-патогенной микрофлоры: *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, дрожжеподобные грибы рода *Candida* и представители бактериальных родов *Mobiluncus*, *Atopobium*, *Prevotella*, *Megasphaera*, *Dialister*, *Peptoniphilus*, *Sneathia*, *Eggerthella*, *Aerococcus*, *Finegoldia*.

Микробиота влагалища у женщин с физиологическим течением беременности стабильна и отличается меньшим разнообразием [11, 12]. Изменение гормонального фона ведет к значительному повышению синтеза гликогена в слизистой оболочке влагалища, что приводит к увеличению роста лактобацилл. Среди представителей лактофлоры в подавляющем большинстве присутствуют *L. crispatus* и *L. iners* [12]. В то же время уменьшается количество условно-патогенных микроорганизмов, в частности, снижается количество как аэробных видов (*Corinebacterium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.* и др.), так и анаэробной микрофлоры (*Bacteroides spp.*, *Peptostreptococcus spp.* и др.) [13]. Снижение сексуальной активности во время беременности также способствует стабильности микрофлоры влагалища.

Нарушение нормального микробиоценоза влагалища может приводить к развитию бактериального вагиноза, аэробного вагинита, вну-

триамниотической инфекции и, следовательно, к осложнениям беременности и родов, инфицированию новорожденных. Данные исследования G. Donders et al. (2009) свидетельствуют о повышенном риске ранних преждевременных родов в 6 раз и невынашивания беременности на ранних сроках в 2 раза при отсутствии лактобацилл и наличии бактериального вагиноза и аэробного вагинита и, напротив, снижении риска преждевременных родов на 75 % у женщин с нормальной микрофлорой влагалища в первом триместре беременности [9].

Таким образом, необходимо исследование микрофлоры влагалища в первом триместре беременности для своевременного выявления дисбиотических нарушений и санации очага инфекции для снижения рисков прерывания беременности.

Целью данного исследования было выявление особенностей микрофлоры влагалища в первом триместре у беременных женщин с невынашиванием в анамнезе.

## Материалы и методы

В исследовании приняли участие женщины, наблюдавшиеся в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», в Центре диагностики, профилактики и лечения невынашивания беременности при Родильном доме № 1, в Женской консультации № 19 города Санкт-Петербурга в период с октября 2015 по апрель 2018 г.

В исследование были включены женщины в возрасте 21–40 лет в первом триместре беременности. Критерии включения: невынашивание беременности в анамнезе (самопроизвольные выкидыши ранних и поздних сроков, неразвивающаяся беременность, преждевременные роды). Критерии исключения: сахарный диабет, хроническая почечная патология, множественная миома матки, рубец на матке, тяжелая хроническая патология дыхательной и сердечно-сосудистой системы, тяжелая патология печени, многоплодная беременность, хламидийная инфекция, применение антибактериальных препаратов в течение предшествующих четырех недель.

Обследование включало pH-метрию вагинального отделяемого, лабораторные исследования вагинального отделяемого с применением микроскопического, культурального и молекулярно-биологического (количественная ПЦР в реальном времени) методов.

Забор вагинального отделяемого производили из заднебокового свода с применением двух стерильных тампонов и шпателя. Содержимое шпателя наносили на два предметных стекла для микроскопического исследования, один тампон помещали в транспортную среду для бактериологического исследования, содержимое второго тампона использовали для молекулярно-биологического анализа.

Значения pH вагинального отделяемого измеряли при помощи индикаторных полосок «Кольпо-тест pH», предназначенных для визуального количественного определения кислотности влагалищной среды. Диапазон значений «Кольпо-тест pH» находится в пределах 3,0–7,0 pH. Цветная шкала на этикетке содержит серию цветовых полей, соответствующих значениям pH 3,0; 3,5; 3,7; 4,0; 4,2; 4,5; 4,8; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0. В основе метода определения pH влагалищной жидкости лежит химическая реакция определения ионов водорода в биологических жидкостях организма человека с помощью pH-индикаторов. В зависимости от значений pH влагалищной жидкости изменяется окраска pH-индикаторов. pH влагалищной жидкости измеряли путем нанесения вагинальной жидкости со стерильного шпателя жидкости на сенсорный элемент тест-полоски.

Для микроскопического анализа клинический материал помещали на два предметных стекла и окрашивали 1 % раствором метиленового синего и по Граму. Оценивали отношение количества лейкоцитов к количеству эпителиальных клеток (в норме  $\leq 1 : 1$ ), присутствие лактобацилл, других микроорганизмов, дрожжеподобных грибов, трихомонад, а также «ключевых клеток».

Для бактериологического исследования клинический материал помещали в две чашки Петри с искусственной питательной средой, содержащей 5 % баранью кровь (Oxoid, Великобритания). Одну чашку Петри инкубировали в условиях атмосферного воздуха при температуре 37 °C в течение 48 часов, вторую — в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (5 % CO<sub>2</sub>) при температуре 37 °C в течение 48 часов. Для выделения дрожжеподобных грибов рода *Candida* использовали бульон Сабуро (инкубирование при температуре 37 °C в течение 48 часов) с последующим высевом на агар Сабуро. Выделенные микроорганизмы идентифицировали на масс-спектрометре Microflex (Bruker, Германия) при помощи базы данных Maldi Bio Typer RTC.

Молекулярно-биологическое исследование микрофлоры влагалища проводили с исполь-

зованием теста «Фемофлор-16» («ДНК-Технология», Москва). Тест основан на методе количественной ПЦР в режиме реального времени и позволяет определить количество ДНК искомого микроорганизма в образце, которое выражается в геномных эквивалентах (ГЭ). Количество ГЭ пропорционально количеству клеток микроорганизма. С помощью теста определяют тотальную концентрацию бактериальной ДНК — общую бактериальную массу (ОБМ) — и концентрацию (абсолютную и относительную) следующих видов/родов микроорганизмов: *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Gardnerella vaginalis*/*Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Sneathia/Leptotrichia/Fusobacterium*, *Megasphaera/Veillonella/Dialister*, *Lachnobacterium spp./Clostridium*, *Mobiluncus spp./Corynebacterium*, *Peptostreptococcus*, *Atopobium vaginae*. Кроме того, оценивали абсолютную концентрацию *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* и *Candida*. ПЦР-анализ осуществляли согласно инструкции производителя.

Выявление и определение вида лактобацилл (*Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus vaginalis*) в отделяемом влагалища выполняли методом ПЦР в реальном времени с применением набора реагентов для исследовательских целей производства «ДНК-Технология» (Москва).

Статистический анализ результатов проводили с использованием статистического пакета NCSS 12 (NCSS, LCC). Для непрерывных переменных данные представляли графически в виде диапазона и медианы с межквартильными интервалами, для анализа различий применяли

U-критерий Манна – Уитни. Для категориальных переменных данные рассчитывали в виде частот, различия анализировали с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. Если при анализе таблиц сопряженности хотя бы в одной ячейке ожидаемое явление принимало значение от 5 до 9, критерий хи-квадрат рассчитывали с поправкой Йейтса. Если хотя бы в одной ячейке ожидаемое явление было ниже 5, то для анализа применяли точный критерий Фишера. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05 ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

Всего в исследование было включено 160 женщин. В основную группу (группу 1) вошли 100 женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. Группу сравнения (группу 2) составили 60 женщин без невынашивания беременности в анамнезе.

Возраст пациенток варьировал от 21 до 40 лет (средний возраст для обеих групп составил 29 лет (27–32,5 года)). Обследование проводили при сроке беременности от 5 до 12 недель (средний срок гестации для обеих групп составил 9 недель).

Пациентки первой группы имели в анамнезе в среднем два случая невынашивания беременности (табл. 1).

Наиболее часто отмечались случаи невынашивания беременности на раннем сроке (96 %). Частота случаев позднего невынашивания — преждевременных родов и позднего выкидыша — была намного ниже (7 и 13 % соответственно). Превалирующее число потерь беременности наблюдалось при сроке 7/8 и 9/10 недель (рис. 1).

Таблица 1 / Table 1

Частота невынашивания беременности у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе (группа 1)  
Cases of miscarriage in women with a history of miscarriage (group 1)

Число случаев досрочного самопроизвольного прерывания беременности	Основная группа (n = 100)
1	37 (37 %)
2	47 (47 %)
3	11 (11 %)
4	5 (5 %)
Среднее число случаев невынашивания беременности	2 (1–2)

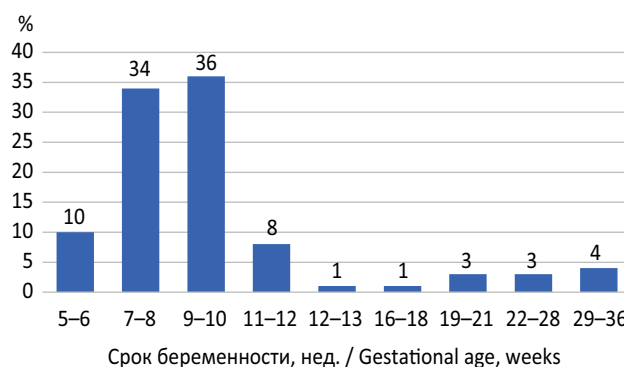


Рис. 1. Гестационные сроки невынашивания беременности у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе (группа 1)

Fig. 1. Gestational age of miscarriage in women with a history of miscarriage (group 1)



Таблица 2 / Table 2

Гинекологический и соматический анамнез женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе

Comparative analysis of characteristics of women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)

Заболевание	Группа 1 (n = 100)	Группа 2 (n = 60)	p
Хронический эндометрит	34 (34 %)	0 (0 %)	< 0,00005
Нарушение менструальной функции	11 (11 %)	0 (0 %)	0,0072
Хронический сальпингоофорит	4 (4 %)	0 (0 %)	0,29782
Эрозия шейки матки	23 (23 %)	9 (15 %)	0,30743
Наружный генитальный эндометриоз	3 (3 %)	0 (0 %)	0,29245
Артериальная гипертензия	3 (3 %)	2 (3,3 %)	1,00000
Варикозная болезнь	11 (11 %)	6 (10 %)	1,00000
Хронический тонзиллит/бронхит	5 (5 %)	12 (20 %)	0,00661
Хронический гастрит	9 (9 %)	10 (16,7 %)	0,23057
Хронический цистит	5 (5 %)	0 (0 %)	0,15787
Ожирение	4 (4 %)	2 (3,3 %)	1,00000
Миопия	4 (4 %)	7 (11,7 %)	0,10285
Заболевания щитовидной железы, в том числе	20 (20 %)	5 (8,3 %)	0,08137
• АИТ. Гипотиреоз	16 (16 %)	3 (5 %)	0,04403
• Узловой нетоксический зоб	4 (4 %)	2 (3,3 %)	1,00000
Наследственная тромбофилия	3 (3 %)	0 (0 %)	0,29245

В структуре гинекологических заболеваний хронический сальпингоофорит и наружный генитальный эндометриоз встречались только у женщин с невынашиванием беременности (табл. 2). У 11 % женщин первой группы было отмечено нарушение менструальной функции ( $p < 0,05$ ). Хронический эндометрит в анамнезе был зафиксирован только у женщин с невынашиванием беременности в 34 % случаев. При этом различия между группами по частоте хронического эндометрита были статистически значимы.

При анализе соматического анамнеза выявлены значимые различия между группами по частоте хронического тонзиллита/бронхита и заболеваний щитовидной железы, а именно гипотиреозу (табл. 2).

### Результаты обследования женщин в первом триместре настоящей беременности

Значения pH вагинального отделяемого у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе были значительно выше, чем у женщин с неотягощенным акушерским анамнезом ( $p < 0,05$ ). У 62 (62 %) женщин с невынашиванием в анамнезе определялись значения  $pH > 4,5$ , в то время как в группе без невынаши-

вания значения  $pH > 4,5$  отмечались у 18 женщин (30 %) ( $p < 0,05$ ).

При микроскопическом исследовании отделяемого влагалища наблюдали более высокую частоту воспалительной реакции (превалирование лейкоцитов над эпителиальными клетками) и преобладание других видов микроорганизмов над лактобациллами в группе женщин с невынашиванием беременности в анамнезе (табл. 3).

При культуральном исследовании вагинального отделяемого в группе беременных женщин с невынашиванием в анамнезе было выявлено значительно более высокое количество нелактобациллярных видов микроорганизмов ( $p < 0,05$ ). При этом значительно чаще при культуральном исследовании встречались представители аэробной микрофлоры, а именно *Staphylococcus hominis*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis* (табл. 4).

С применением метода количественной ПЦР в реальном времени (тест «Фемофлор-16») было показано, что у женщин первой группы содержание лактобацилл (концентрация лактобацилл по отношению к ОБМ) было значимо выше, чем у женщин второй группы (рис. 2). Выраженный анаэробный дисбиоз определялся несколько чаще у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе в сравнении с женщи-

Таблица 3 / Table 3

Микроскопическое исследование препаратов отделяемого влагалища в первом триместре беременности у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе  
Microscopic examination of vaginal fluid in the 1<sup>st</sup> trimester of pregnancy in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)

Показатели	Группа 1 (n = 100)	Группа 2 (n = 60)	p
Воспалительная реакция (преобладание лейкоцитов над эпителиальными клетками при микроскопии окрашенного по Граму препарата)	26 (26 %)	10 (16,7 %)	0,17109
Преобладание лактобацилл	86 (86 %)	57 (95 %)	0,05997
Преобладание других видов микроорганизмов	14 (14 %)	3 (5 %)	0,11026
Наличие дрожжевых клеток/псевдомонии	11 (11 %)	3 (5 %)	0,25416
Наличие ключевых клеток	2 (2 %)	1 (1,7 %)	1,00000

Таблица 4 / Table 4

Нелактобациллярные виды микроорганизмов, выявленные при культуральном исследовании отделяемого влагалища у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе  
Non-Lactobacillus species of microorganisms identified in vaginal fluid by bacteriological examination in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)

Характеристика	Группа 1 (n = 100)	Группа 2 (n = 60)	p
Обнаружение <i>Corynebacterium amycolatum</i>	10 (10 %)	2 (3,3 %)	0,21322
Обнаружение <i>Candida albicans</i>	13 (13 %)	5 (8,3 %)	0,51828
Обнаружение <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	5 (5 %)	0 (0 %)	0,15787
Обнаружение <i>Staphylococcus hominis</i>	32 (32 %)	5 (8,3 %)	0,00118
Обнаружение <i>Escherichia coli</i>	7 (7 %)	2 (3,3 %)	0,48536
Обнаружение <i>Staphylococcus epidermidis</i>	6 (6 %)	1 (1,7 %)	0,25728
Обнаружение <i>Streptococcus agalactiae</i>	9 (9 %)	0 (0 %)	0,01443
Обнаружение <i>Klebsiella pneumoniae</i>	6 (6 %)	1 (1,7 %)	0,25728
Обнаружение <i>Enterococcus faecalis</i>	18 (18 %)	3 (5 %)	0,02744
Обнаружение <i>Gardnerella vaginalis</i>	6 (6 %)	1 (1,7 %)	0,25728

нами без невынашивания (6 и 3,3 соответственно,  $p > 0,05$ ). Выраженный аэробный дисбиоз был обнаружен только у женщин первой группы в 5 % случаев, однако различия между группами не достигли статистической значимости.

Определив частоту доминирования различных видов лактобацилл в лактобациллярной микрофлоре влагалища у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе и женщин без невынашивания, выявили преобладание четырех видов лактобацилл: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* и *L. gasseri* (рис. 3). С наибольшей частотой в обеих группах в качестве доминирующего вида обнаруживали *L. crispatus* и *L. iners*. Следует отметить, что частота доминирования *L. crispatus* и *L. jensenii* была несколько выше в группе женщин без невынашивания в анамнезе, в то время как виды *L. iners* и *L. gasseri*,

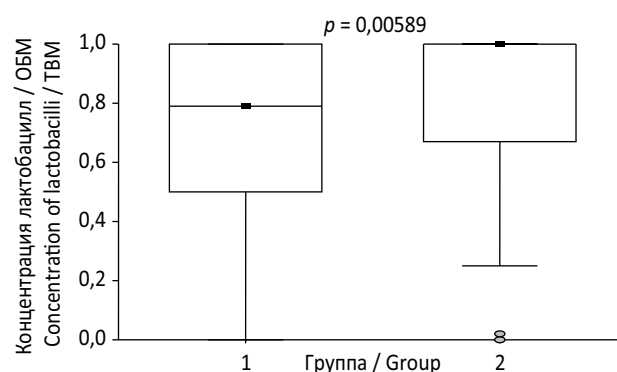
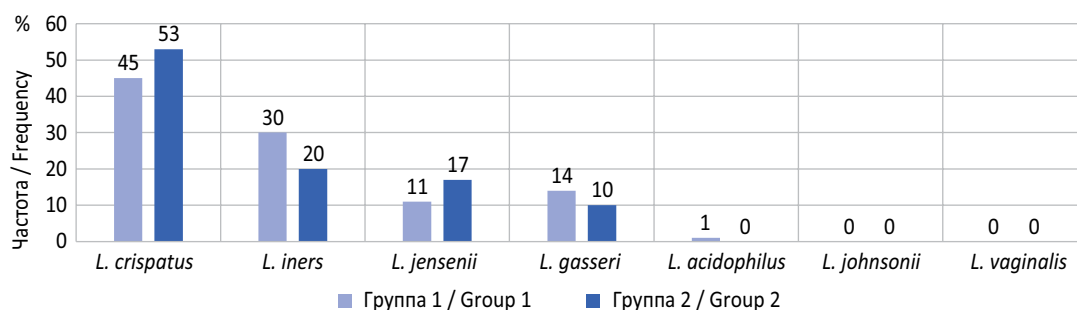


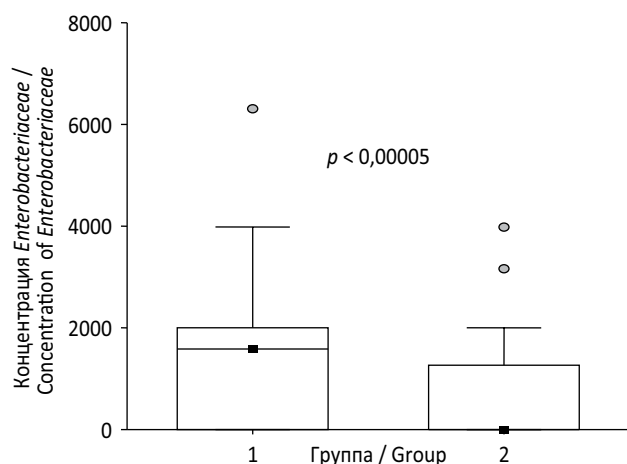
Рис. 2. Содержание лактобацилл в отделяемом влагалища у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе: ОБМ — общая бактериальная масса

Fig. 2. Concentration of lactobacilli in vaginal fluid in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2): TBM — total bacterial mass



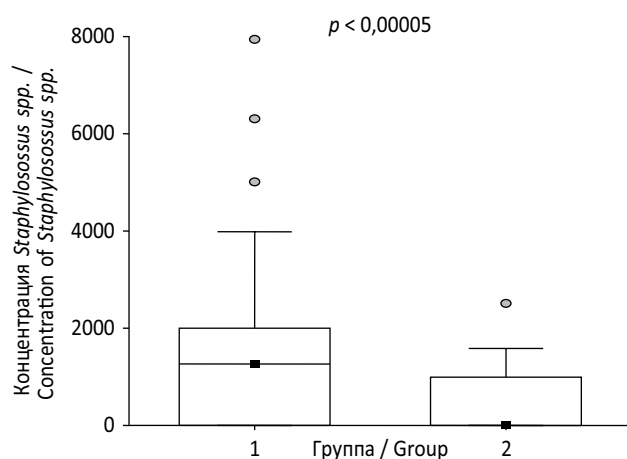
**Рис. 3.** Частота доминирования различных видов лактобацилл в лактобациллярной микрофлоре влагалища у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе

**Fig. 3.** Frequency of dominance of different *Lactobacillus* species in the vaginal *Lactobacillus* flora in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)



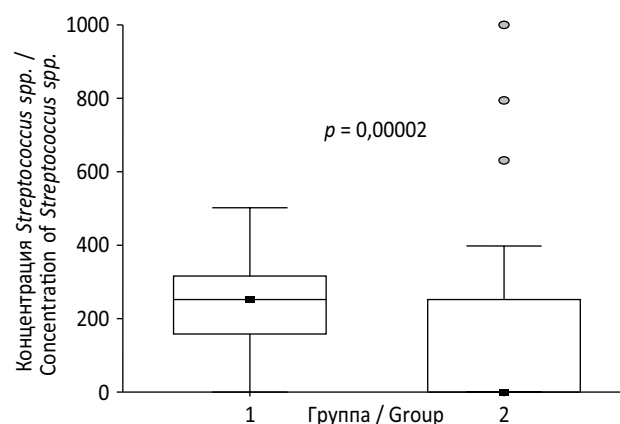
**Рис. 4.** Содержание *Enterobacteriaceae* в отделяемом влагалища у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе

**Fig. 4.** Concentration of *Enterobacteriaceae* in vaginal fluid in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)



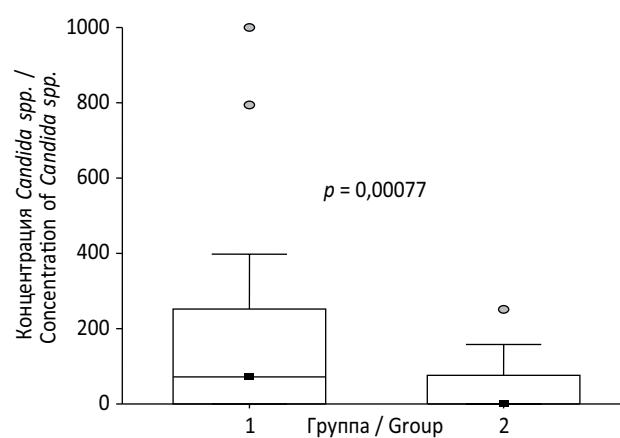
**Рис. 6.** Содержание *Staphylococcus spp.* в отделяемом влагалища у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе

**Fig. 6.** Concentration of *Staphylococcus spp.* in vaginal fluid in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)



**Рис. 5.** Содержание *Streptococcus spp.* в отделяемом влагалища у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе

**Fig. 5.** Concentration of *Streptococcus spp.* in vaginal fluid in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)



**Рис. 7.** Содержание *Candida spp.* в отделяемом влагалища у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе

**Fig. 7.** Concentration of *Candida spp.* in vaginal fluid in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)

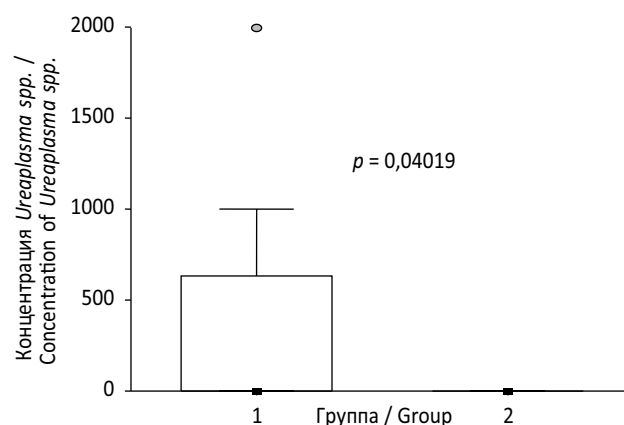
напротив, чаще преобладали в группе женщин с невынашиванием беременности (различия статистически не значимы).

В результате анализа содержания микроорганизмов методом количественной ПЦР в реальном времени были установлены значительно более высокие показатели *Enterobacteriaceae*, стрептококков, стафилококков, дрожжеподобных грибов *Candida spp.* и *Ureaplasma spp.* в группе женщин с невынашиванием беременности в анамнезе (рис. 4–8). Для остальных микроорганизмов значимых различий между группами не выявлено.

## Обсуждение

Снижение частоты невынашивания беременности во многом зависит от выявления этиологического фактора на ранних сроках беременности. Персистенция во влагалище патогенных и условно-патогенных микроорганизмов может приводить к развитию инфекционных заболеваний нижних отделов генитального тракта, микробной инвазии амниотической полости и развитию в дальнейшем неблагоприятных исходов беременности, включая самопроизвольный выкидыш и преждевременные роды. Единого мнения о значимости каких-либо определенных видов микроорганизмов в генезе перинатальных потерь в настоящее время не сложилось. Как правило, изменения в вагинальной микрофлоре носят полимикробный характер. Многочисленные исследования показали, что наличие бактериального вагиноза и аэробного вагинита связано с повышенным риском преждевременных родов и инфекционными осложнениями в послеродовом периоде [14–16].

Проведенный нами сравнительный анализ состава микрофлоры влагалища в первом триместре беременности продемонстрировал, что дисбиотические нарушения диагностировали как у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе, так и без невынашивания, при этом выраженные дисбиозы наблюдали в небольшом проценте случаев. Однако стоит отметить, что частота данных нарушений была несколько выше у женщин с невынашиванием в анамнезе (11 и 3,3 %). На фоне значительных различий в доле лактобациллярной флоры у таких пациенток, в сравнении с женщинами без перинатальных потерь в анамнезе, отмечалось значимое увеличение частоты условно-патогенных микроорганизмов. При этом среди нелактобациллярных видов микроорганизмов в значительной степени доминировали представители



**Рис. 8.** Содержание *Ureaplasma spp.* в отделяемом влагалища у женщин с невынашиванием (группа 1) и без невынашивания (группа 2) беременности в анамнезе

**Fig. 8.** Concentration of *Ureaplasma spp.* in vaginal fluid in women with a history of miscarriage (group 1) and without it (group 2)

аэробной микрофлоры — *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*

J.C. Carey et al. (2005) также обнаружили значимую взаимосвязь между наличием во влагалище у женщин представителей аэробной вагинальной флоры (*Klebsiella spp.*, *E. coli*, стафилококков и стрептококков) и преждевременными родами [17]. G. Donders et al. (2009) установили, что у женщин с дисбиотическими процессами во влагалище с преобладанием как аэробной микрофлоры, так и облигатно-анаэробных микроорганизмов в первом триместре беременности отмечалось повышение риска самопроизвольного выкидыша и преждевременных родов. В нашей работе среди облигатных анаэробных бактерий у беременных с невынашиванием в анамнезе несколько чаще встречались *Eubacterium spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*. В недавно проведенном исследовании французских ученых [18] также было показано, что при сочетании высоких концентраций *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* в вагинальном отделяемом у женщин с симптомами угрозы досрочного прерывания беременности или с наличием в анамнезе поздних выкидышей риск преждевременных родов повышался.

Нами было выявлено значительное преобладание *Ureaplasma spp.* и дрожжеподобных грибов *Candida spp.* у беременных с невынашиванием в анамнезе по сравнению с женщинами без невынашивания. Несмотря на значимую роль *Ureaplasma spp.* в развитии осложнений у недоношенных детей, данные в отношении роли этого микроорганизма в этиологии досроч-



ного прерывания беременности в настоящее время остаются достаточно противоречивыми [9, 19–21]. Также нет единого мнения о степени влияния вульвовагинального кандидоза на увеличение риска спонтанного прерывания беременности [22–24]. Однако имеются данные об увеличении частоты преждевременных родов у женщин с рецидивирующим кандидозным вагинитом с ранних сроков беременности [25].

Высокие значения pH вагинального отделяемого значительно чаще были отмечены у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. Известны несколько факторов, обуславливающих повышение pH вагинальной среды. С одной стороны, эти изменения связаны с уменьшением лактобациллярной флоры на фоне увеличения количества патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, с другой — с нарушением процессов ацидо- и аммонирования в эпителии влагалища и повышением активности протеолитических ферментов при дисбиозах [26]. Во время беременности повышение pH влагалища вместе с симптомами нарушений микробиоценоза может служить значимым фактором для диагностики дисбиотических нарушений, в частности, бактериального вагиноза [27].

Таким образом, анализ микробиоты влагалища в первом триместре беременности у женщин с невынашиванием в анамнезе показал значимые особенности: 1) высокие значения pH вагинальной среды ( $> 4,5$ ); 2) преобладание нелактобациллярной микрофлоры над лактобациллами; 3) преобладание в два раза аэробных бактерий (энтеробактерий, стрептококков, стафилококков); 4) высокое содержание уреазоплазм и дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

Полученные данные свидетельствуют о дисбиотических изменениях микробиоты влагалища в первом триместре у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. Эти факторы могут являться причиной самопроизвольного прерывания беременности на поздних сроках, поэтому необходимо проведение динамического диагностического мониторинга микробиоты влагалища во время беременности в группах риска по невынашиванию беременности со своевременным лечением обнаруженных дисбиозов.

## Литература

- Garland SM, Ní Chuileannáin F, Satzke C, Robins-Browne R. Mechanisms, organisms and markers of infection in pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2002;57(1-2):169-183. doi: 10.1016/s0165-0378(02)00018-9.

- Берлев И.В., Кира Е.Ф. Роль условно-патогенной микрофлоры в развитии невынашивания беременности у женщин с нарушением микробиоценоза влагалища // Журнал акушерства и женских болезней. — 2002. — Т. 51. — № 1. — С. 33–37. [Berlev IV, Kira EF. Rol' uslovno patogennoy mikroflory v razvitii nevynashivaniya beremennosti u zhenshhin s narusheniem mikrobiotsenoza vlagalishcha. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2002;51(1):33-37. (In Russ.)]
- Petricic L, Domig KJ, Nierscher FJ, et al. Characterisation of the vaginal Lactobacillus microbiota associated with preterm delivery. *Sci Rep*. 2014;4(1). doi: 10.1038/srep05136.
- Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. — М.: Триада-Х, 2005. [Sidel'nikova VM. Privychnaya poterya beremennosti. Moscow: Triada-Kh; 2005. (In Russ.)]
- Giakoumelou S, Wheelhouse N, Cuschieri K, et al. The role of infection in miscarriage. *Hum Reprod Update*. 2016;22(1):116-133. doi: 10.1093/humupd/dmv041.
- McClure EM, Goldenberg RL. Infection and stillbirth. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2009;14(4):182-189. doi: 10.1016/j.siny.2009.02.003.
- Mendz GL, Kaakoush NO, Quinlivan JA. Bacterial aetiological agents of intra-amniotic infections and preterm birth in pregnant women. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013;3:58. doi: 10.3389/fcimb.2013.00058.
- Russell P. Inflammatory lesions of the human placenta: clinical significance of acute chorioamnionitis. *Am J Diagn Gynecol Obstet*. 1979;1:127-137.
- Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, et al. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG*. 2009;116(10):1315-1324. doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02237.x.
- Pavlova SI, Kilic AO, Kilic SS, et al. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries based on 16S rRNA gene sequences. *J Appl Microbiol*. 2002;92(3):451-459. doi: 10.1046/j.1365-2672.2002.01547.x.
- DiGiulio DB, Callahan BJ, McMurdie PJ, et al. Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(35):11060-11065. doi: 10.1073/pnas.1502875112.
- Romero R, Hassan SS, Gajer P, et al. Correction: The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome*. 2014;2(1):10. doi: 10.1186/2049-2618-2-10.
- Берлев И.В. Состояние микрорекосистемы влагалища у беременных и ее роль при инфекционной патологии в акушерской практике: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 2001. [Berlev IV. Sostoyanie mikroekosistemy vlagalishcha u beremennykh i ee rol' pri infektsionnoy patologii v akusherskoy praktike. [dissertation] Saint Petersburg; 2001. (In Russ.)]

14. Jacobsson B, Pernevi P, Chidekel L, Platz-Christensen JJ. Bacterial vaginosis in early pregnancy may predispose for preterm birth and postpartum endometritis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2002;81(11):1006-1010. doi: 10.1034/j.1600-0412.2002.811103.x.
15. Daskalakis G, Papapanagiotou A, Mesogitis S, et al. Bacterial Vaginosis and Group B Streptococcal Colonization and Preterm Delivery in a Low-Risk Population. *Fetal Diagn Ther.* 2006;21(2):172-176. doi: 10.1159/000089298.
16. Thorsen P, Vogel I, Olsen J, et al. Bacterial vaginosis in early pregnancy is associated with low birth weight and small for gestational age, but not with spontaneous preterm birth: a population-based study on Danish women. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2006;19(1):1-7. doi: 10.1080/14767050500361604.
17. Carey JC, Klebanoff MA. Is a change in the vaginal flora associated with an increased risk of preterm birth? *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(4):1341-1346; discussion 1346-1347. doi: 10.1016/j.ajog.2004.12.069.
18. Bretelle F, Rozenberg P, Pascal A, et al. High Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis vaginal loads are associated with preterm birth. *Clin Infect Dis.* 2015;60(6):860-867. doi: 10.1093/cid/ciu966.
19. Tavo V. Prevalence of Mycoplasma Hominis and Ureaplasma Urealyticum among Women of Reproductive Age in Albania. *Med Arch.* 2013;67(1):25. doi: 10.5455/medarh.2013.67.25-26.
20. Paul VK, Gupta U, Singh M, et al. Association of genital mycoplasma colonization with low birth weight. *Int J Gynecol Obstet.* 1998;63(2):109-114. doi: 10.1016/s0020-7292(98)00135-0.
21. Stout MJ, Zhou Y, Wylie KM, et al. Early pregnancy vaginal microbiome trends and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(3):356.e1-356.e18. doi: 10.1016/j.ajog.2017.05.030.
22. Cotch MF, Hillier SL, Gibbs RS, Eschenbach DA. Epidemiology and outcomes associated with moderate to heavy Candida colonization during pregnancy. Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178:374-80.
23. Banhyd F, Acs N, Puho EH, Czeizel AE. Rate of preterm births in pregnant women with common lower genital tract infection: a population-based study based on the clinical practice. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22(5):410-418. doi: 10.1080/14767050902801645.
24. Czeizel AE, Fladung B, Vargha P. Preterm birth reduction after clotrimazole treatment during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;116(2):157-163. doi: 10.1016/j.ejogrb.2004.02.011.
25. Farr A, Kiss H, Holzer I, et al. Effect of asymptomatic vaginal colonization with Candida albicans on pregnancy outcome. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015;94(9):989-996. doi: 10.1111/aogs.12697.
26. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. — СПб.: МИА, 2012. [Kira EF. Bakterial'nyy vaginoz. Saint Petersburg: MIA; 2012. (In Russ.)]
27. Di Renzo GC, De Domenico P. Cervico-inguinal microbiology, vaginal pH, infections, and premature labor. *Acta Biomed Ateneo Parmense.* 2000;71 Suppl 1:513-517.

#### ■ Информация об авторах (Information about the authors)

Анна Александровна Синякова — аспирант. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: annakizeeva@yandex.ru.

Елена Васильевна Шипицына — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: shipitsyna@inbox.ru.

Ольга Викторовна Будилова — научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: iagmail@ott.ru.

Зинаида Михайловна Мартикайнен — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: iagmail@ott.ru.

Алексей Николаевич Григорьев — научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия. E-mail: iagmail@ott.ru.

Вячеслав Михайлович Болотских — д-р мед. наук, заместитель директора по лечебной работе. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: iagmail@ott.ru.

Алевтина Михайловна Савичева — д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующая лабораторией микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. E-mail: savitcheva@mail.ru.

Anna A. Sinyakova — Post-Graduate Student. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: annakizeeva@yandex.ru.

Elena V. Shipitsyna — PhD, DSci (Biology), Leading Researcher. The Laboratory of Microbiology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: shipitsyna@inbox.ru.

Olga V. Budilovskaya — Researcher. The Laboratory of Microbiology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: iagmail@ott.ru.

Zinaida M. Martikaynen — PhD, Senior Researcher. The Laboratory of Microbiology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: iagmail@ott.ru.

Aleksey N. Grigoryev — Researcher. The Laboratory of Microbiology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: iagmail@ott.ru.

Vyacheslav M. Bolotskikh — MD, PhD, DSci (Medicine), Deputy Director for Clinical Care. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: iagmail@ott.ru.

Alevtina M. Savicheva — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor, Honoured Scholar of the Russian Federation, the Head of the Laboratory of Microbiology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. E-mail: savitcheva@mail.ru.