



© В. В. Назарова

ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта»
СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург

МИКРОБИОТА ВЛАГАЛИЩА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ МИКРОБИОЦЕНОЗЕ И ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ВАГИНОЗЕ

УДК: 618.15-002

■ В статье представлен обзор литературы по проблеме бактериального вагиноза, освещены современные методы диагностики этого заболевания. Особое внимание уделено особенностям микробиоты влагалища при физиологическом микробиоценозе и при бактериальном вагинозе.

■ **Ключевые слова:** бактериальный вагиноз; микробиота влагалища; анаэробная микрофлора; диагностика.

Актуальность

Бактериальный вагиноз (БВ) — одно из самых распространенных нарушений микробиоты влагалища, является актуальной проблемой в акушерско-гинекологической практике, так как значительно ассоциирован с воспалительными заболеваниями органов малого таза [48], цервицитом [44], амнионитом [18], хориоамнионитом [31], преждевременными родами [10], кроме того, увеличивает риск инфицирования другими ИППП и ВИЧ [9, 13, 27].

Несмотря на достаточно высокий уровень развития современной клинической микробиологии, этиология и патогенез БВ остаются предметом дискуссии. Считается, что снижение количества H_2O_2 -продуцирующих лактобактерий, приводит к увеличению рН вагинальной среды, вследствие чего влагалище массово колонизируется синантропной анаэробной микрофлорой. Однако до сих пор остается неизвестным, что в этом механизме является иницирующим фактором [54].

В ряде отечественных и зарубежных работ было показано, что частота обнаружения БВ во многом зависит от контингентов обследуемых женщин, и составляет 5–17% у практически здоровых женщин, 30–38% у пациенток, предъявляющих жалобы на выделения из половых путей, посещающих женские консультации и специализированные клиники для лечения инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) [2].

Проведенные исследования свидетельствуют, что БВ встречается в любые возрастные периоды жизни женщины. По данным С. В. Малышевой (2001), БВ был диагностирован у 32,4% девочек пубертатного возраста при профилактических осмотрах и у 28,3% обратившихся к гинекологу с жалобами на бели [4].

В Италии А. Spinillo и соавт. (1997) изучили распространенность БВ, кандидоза и трихомониаза в популяции женщин в период менопаузы. При обследовании 148 пациенток в постменопаузе и 1564 женщин репродуктивного возраста (группа сравнения), было выявлено, что распространенность БВ в двух группах составила 29,2% и 13,4% соответственно [50].

БВ чаще встречается среди женщин из однополых пар, имеющих несколько половых партнеров мужчин или сообщающих о новом половом партнере. Также факторами риска являются: частые спринцевания, использование внутриматочной спирали, гормональная контрацепция, курение и хронический стресс [29].

Среди женского населения, постоянно проживающего на территориях с повышенным радиационным фоном (Кира Е. Ф., 1991), бактериальный вагиноз клинически и лабораторно был диагностирован у 637 из 1026 обследованных

женщин (62,1%) [1]. Таким образом, можно констатировать увеличение частоты БВ среди женщин, подвергшихся радиационному облучению малыми дозами. Однако доказать зависимость влияния радиации на микробиоценоз влагалища пока не представляется возможным, так как нельзя исключить воздействие ряда таких факторов как: образ жизни, ее уклад и культура, половое воспитание, гигиенические привычки, профессиональные вредности и многих других.

Нормальная микрофлора влагалища

Микрофлора половых органов здоровой женщины представляет собой комплексную, динамически изменяющуюся микроэкосистему, включающую, кроме лактобацилл, факультативные и облигатные анаэробы, формирующую колонизационную резистентность влагалищного биотопа, выполняющую защитную, ферментативную, витаминообразующую, иммуностимулирующую функции.

Состав микрофлоры влагалища женщины репродуктивного возраста зависит от фазы менструального цикла, наличия беременности, гормональных изменений, гинекологических операций, сексуальной активности, экспозиции спермы, гигиенических привычек, приема antimicrobных препаратов. Иммунодефицитные состояния, инфекционные и неинфекционные заболевания, эндокринопатии, спринцевания и спермицидные препараты также являются факторами, изменяющими состав вагинальной микрофлоры.

Лактобациллы являются наиболее значимыми представителями вагинальной микрофлоры, в процессе нормального метаболизма они способны образовывать молочную кислоту, перекись водорода, продуцировать лизоцим и другие вещества с антибиотической активностью. Лактобациллы обеспечивают защитный механизм путем поддержания кислой среды во влагалище, создающей неблагоприятные условия для развития патогенной микрофлоры. Важное значение имеет их способность продуцировать перекись водорода. Присутствие во влагалищном микробиоценозе некоторых микроорганизмов, ассоциированных с БВ, таких как *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia/disiens*, *Bacteroides ureolyticus*, *Prevotella corporis/Bacteroides levii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Mobiluncus species*, *Peptostreptococcus prevotii*, *Peptostreptococcus tetradius*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Streptococcus viridans*, *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis*, обратно пропорционально связано с колонизацией H_2O_2 -продуцирующими лактобациллами [51]. Кроме того, действие перекиси водорода, производимой лактобациллами, связано с уменьшением

вирусной нагрузки в вагинальном отделяемом у ВИЧ-положительных женщин [21, 29]. Род лактобацилл насчитывает более 120 видов, но во влагалище в основном обитают 4 вида: *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri* и *Lactobacillus inners*. Доминируют во влагалищном микробиоценозе каждой женщины только один или два из них [8, 38, 49, 52].

В состав нормальной микрофлоры влагалища в небольшом количестве могут входить *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, дрожжеподобные грибы рода *Candida* и анаэробные бактерии (рода *Mobiluncus* и другие) [2]. Генитальные микоплазмы и грибы рода *Candida* присутствуют в составе нормального (физиологического) микробиоценоза влагалища в количестве, не превышающем 10^4 КОЕ/мл. *Candida spp.* обнаруживается у 10–20% здоровых женщин репродуктивного возраста. Однако при создании благоприятных условий для роста и размножения дрожжеподобных грибов, особенно при состоянии локального иммунодефицита, возможно развитие кандидозного вульвовагинита [3]. Таким образом, некоторые представители нормальной микрофлоры влагалища, принадлежащие к группе условно патогенных микроорганизмов (УПМ), потенциально, в случае нарушения микробиологии генитального тракта, могут вызвать развитие патологического процесса.

Особенности микробиоценоза влагалища при БВ

Вагинальная экосистема очень разнообразна, но только развитие молекулярно-биологических технологий позволило существенно расширить представления о видовом многообразии вагинальной микрофлоры, так как появилась возможность выявления и типирования трудно культивируемых и некультивируемых бактерий. В недавнем исследовании с применением метода пиросеквенирования было определено, что число филотивов бактерий (эквивалентное обозначение вида), которые формируют микрофлору влагалища, в норме составляет 1584, а при бактериальном вагинозе достигает 2455. Микроорганизмы, ассоциированные с бактериальным вагинозом, представлены в основном 4 типами: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* и *Fusobacteria*; тогда как подавляющее большинство бактерий, встречающихся во влагалище здоровых женщин, принадлежит типу *Firmicutes*, и только небольшая часть относится к типу *Actinobacteria*. Тип *Firmicutes* при бактериальном вагинозе представлен порядком *Clostridiales* [33]. В последнее время было описано несколько новых видов клостридий, ассоциированных с бактериальным вагинозом. Большинство

Таблица 1

Бактерии, ассоциированные с БВ [33]

Тип	Порядок	Род
<i>Firmicutes</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Megasphaera</i> <i>Veillonella</i> <i>Peptoniphilus</i> <i>Dialister</i> <i>Lachnobacterium</i> BVAB1 (Bacterial vaginosis associated bacterium 1) BVAB2 (Bacterial vaginosis associated bacterium 2) BVAB3 (Bacterial vaginosis associated bacterium 3)
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Mobiluncus</i>
	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Gardnerella</i>
	<i>Coriobacteriales</i>	<i>Atopobium</i> <i>Eggerthella</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i>
<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Fusobacterium</i> <i>Sneathia</i> <i>Leptotrichia</i>

из этих бактерий не растет ни на одной известной культуральной среде, некоторым из них еще не даны названия [34]. Тип *Actinobacteria* представлен в основном 3 порядками: *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales* и *Coriobacteriales*.

В таблице 1 представлены основные бактерии, ассоциированные с бактериальным вагинозом.

При бактериальном вагинозе значительно снижается количество лактобацилл, продуцирующих перекись водорода или они полностью отсутствуют [51], преобладает полимикробная, в основном анаэробная микрофлора (возрастает доля *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus spp.*), увеличивается общая степень колонизации влагалища разнообразными микроорганизмами (до 10^9 – 10^{11} КОЕ/мл), увеличивается рН вагинального отделяемого (более 4,5).

Исследования с использованием молекулярных методов демонстрируют изменения видового состава лактобацилл. *Lactobacillus crispatus* и *Lactobacillus jensenii* в высокой концентрации присутствуют у пациенток без БВ, при БВ их количество значительно снижено. Концентрация *Lactobacillus inners* была высокой во всех группах, кроме того, это единственный вид, который выявляется как у здоровых женщин, так и у женщин с БВ. Наименее распространен вид *Lactobacillus gasserii*, который к тому же не является преобладающим в составе вагинальной микрофлоры [39]. Анализ генома *Lactobacillus inners* показал, что этот микроорганизм адаптируется к изменениям рН, извлекая питательные вещества из окружающей среды. Хотя этот вид не продуцирует пере-

кись водорода, его способность сохраняться даже после применения антибиотиков играет важную роль в восстановлении микрофлоры, будучи первым среди лактобактерий он создает среду, которая позволяет восстановить количество других видов *Lactobacillus sp.* [32].

Также высказывалось предположение, что ввиду относительного отсутствия антагонизма между *Lactobacillus inners* и БВ-ассоциированными анаэробами, преобладание в микрофлоре влагалища этого вида лактобацилл увеличивает риск развития БВ.

Что касается микроорганизмов, выявляемых при бактериальном вагинозе, то несколько лет тому назад многие авторы утверждали, что лишь *Gardnerella vaginalis* является основным возбудителем при БВ, даже существовал термин «гарднереллез». Позднее это утверждение было поставлено под сомнение, так как этот микроорганизм стали выделять от здоровых женщин. В настоящее время, благодаря молекулярно-биологическим методам диагностики, выявлены и другие микроорганизмы, ассоциированные с БВ, такие как *Atopobium vaginae*, *Megasphaera spp.*, *Eggerthella spp.*, *Leptotrichia spp.*, *Dialister spp.*, *Slackia spp.*, BVAB-1, BVAB-2, BVAB-3, *Sneathia spp.* и др. [33,34]. В дальнейшем, в статье будет использоваться термин «БВ-ассоциированные микроорганизмы», тем не менее важно отметить, что они не являются возбудителями БВ.

Использование ДНК-технологий позволяет понять, насколько сложны изменения в микрофлоре, лежащие в основе БВ, а также помогает

в разработке и усовершенствовании диагностических тестов. Литературные данные последних лет вновь обращены к изучению *Gardnerella vaginalis*: описана способность продуцировать цитолизины [17, 22], впервые проведен сравнительный анализ генома гарднерелл, подтвердивший целесообразность их разделения на 4 отдельных вида [15]. Многие исследования связаны с характерной особенностью *Gardnerella vaginalis* образовывать биопленки, что является ключевым звеном патогенеза БВ [6]. Кроме того, было обнаружено две формы существования *Gardnerella vaginalis*, которые не переходят друг в друга: дисперсная — являющаяся частью нормальной микрофлоры, и не встречающаяся при БВ, другая в форме биопленок, обнаружена у пациенток с БВ и их половых партнеров [23, 53]. Поэтому крайне важны исследования, позволяющие определить разнообразие микроорганизмов при БВ и выделить основные из них как определяющие в этиологии этого заболевания.

Современные методы диагностики БВ

Диагностику БВ можно условно разделить на клиническую (метод Amsel), микроскопическую («Bed side»-микроскопия, метод Нуджента, метод Ison-Hay), культуральную, хроматографическую, молекулярно-биологическую.

С помощью микроскопического метода БВ можно диагностировать непосредственно в клинике у постели больной, он традиционно является самым доступным и дешевым прямым методом оценки состояния вагинального микробиоценоза [19]. Например, в Скандинавии микроскопическое исследование клинических материалов, полученных из влагалища, является прерогативой лечащего врача без вовлечения лаборатории или дополнительного персонала клиники. Целью исследования нативных «влажных» препаратов, так называемая «Bed side»-микроскопия, является выявление лактобацилл, других микроорганизмов, «ключевых клеток» (эпителиальные клетки, покрытые снаружи адгезированными граммотрицательными бактериями), лейкоцитов. При этом для установления диагноза БВ достаточно определить хотя бы одну «ключевую» клетку в трех исследованных полях зрения светового микроскопа при увеличении $\times 400$ [43]. Кроме того, при использовании метода прямой микроскопии влажных препаратов для установления диагноза БВ определяется отношение полиморфно-ядерных лейкоцитов к клеткам вагинального эпителия менее чем 1 : 1, доминирует мелкая кокковидная микрофлора, уменьшается количество лактобацилл или они отсутствуют вообще [5].

R. Amsel и др. в 1983 [36] предложили клиническую диагностику БВ на основании 4 критериев: наличие специфических выделений из влагалища (при БВ жидкие и однородные), pH отделяемого влагалища выше 4,5, положительный «аминовый» тест, обнаружение «ключевых» клеток при микроскопическом исследовании нативного препарата. Для установления диагноза БВ достаточно наличия 3 из этих 4 критериев.

Для определения pH вагинального содержимого используются тест-полоски или специальные перчатки с индикатором на указательном пальце. Значение pH вагинального отделяемого при БВ превышает нормальные показатели, что зависит от элиминации лактофлоры или резкого снижения ее содержания и уменьшения образования молочной кислоты. Следует учитывать возможность ложноположительных результатов pH-метрии при попадании в вагинальное отделяемое цервикальной слизи, крови, спермы, поскольку эти биологические жидкости имеют более высокий по сравнению с влагалищным секретом pH. Необходимо отметить, что pH влагалища при трихомонадной инфекции тоже повышается. Чувствительность и специфичность этого теста относительно невысоки и не превышают 85 %.

Появление аминного запаха вагинальных выделений обусловлено изменением состава органических кислот в вагинальной жидкости и повышением уровня органических аминов (путресцина, кадаверина, триэтиламина и др.) в процессе реакции декарбоксилирования аминокислот анаэробными бактериями. Нелетучие соли этих соединений при повышенном значении pH превращаются в летучие амины, и «рыбный» запах становится ощутимым или усиливается. На этом основан «аминовый тест», используемый как один из критериев Амсель, когда при добавлении к капле вагинальных выделений капли 10% КОН появляется специфический запах. Здесь следует отметить, что *Gardnerella vaginalis*, часто выявляемая при БВ, не продуцирует эти соединения. Поэтому в случаях ее доминирования в составе вагинального микробиоценоза аминотест будет отрицательным. Чувствительность и специфичность этого диагностического теста равны соответственно 79 % и 97 %. К сожалению, столь простые и недорогие методы, как «аминовый» тест и измерение pH вагинального отделяемого, практически не используются акушерами-гинекологами в клинической практике.

Преимуществом метода Amsel является возможность быстро установить диагноз БВ во время приема врача и сразу назначить терапию, недостатками являются отсутствие возможности для

микроскопического исследования нативного препарата у большинства врачей, а также субъективность метода.

В научных исследованиях используется метод Spiegel [47], основанный на классификации бактериальной микрофлоры в окрашенном по Граму препарате влагалищного отделяемого. Метод отражает как изменения в экологии влагалища, так и бактериальные ассоциации и позволяет диагностировать БВ.

Для оценки результатов исследования препаратов, полученных из отделяемого влагалища и окрашенных по Граму, Nugent R. P. с соавторами была предложена стандартная десятибалльная система [37]. Микробиоценоз влагалища расценивают как нормоценоз при числе баллов от 0 до 3, промежуточный вариант микробиоценоза при числе баллов от 4 до 6 и бактериальный вагиноз при числе баллов от 7 до 10. Оцениваются 3 морфотипа бактерий: морфотип лактобацилл, морфотип грам-вариабельных палочек и морфотип изогнутых палочек. Метод Nugent позволяет определить изменения бактериальных морфотипов, проявляющиеся в исчезновении нормальных лактобацилл и доминировании морфотипа *Gardnerella* и анаэробов, а также морфотипа *Mobiluncus*. Преимуществами метода Нуджента являются: относительно высокие чувствительность и специфичность, высокая степень стандартизации и высокая воспроизводимость. Недостатками — трудоемкость, существование «промежуточного» варианта микробиоценоза и сложность применения в рутинной практике. Исследование по Нудженту не заменяет исследование микробиоценоза, когда определяются другие важные показатели, такие как воспалительная реакция. Следует отметить, что в России и Европе метод Nugent для диагностики БВ практически не используется, но широко применяется в США и считается «золотым» стандартом диагностики бактериального вагиноза.

Авторы метода Ison-Hay [28] предлагают разделить бактериальную микрофлору влагалища на 5 уровней: 0 — эпителиальные клетки, бактерии отсутствуют; I — нормальная вагинальная микрофлора (морфологические типы лактобацилл); II — уменьшение количества лактобацилл, смешанная бактериальная микрофлора; III — смешанная бактериальная микрофлора, малое количество или полное отсутствие лактобацилл; IV — грамположительные кокки. Уровни 0, I и IV обнаруживаются у женщин при отсутствии БВ. Уровень II — промежуточный, уровень III соответствует диагнозу БВ по критериям Amsel.

Бактериологическое исследование с выделением чистых культур микроорганизмов достаточно трудоемкое и продолжительное

по времени (до 7–10 дней), требует высокой квалификации врачей-бактериологов и строгого методического подхода к организации лаборатории, хранению и транспортировке биоматериала. Микроорганизмы, связанные с БВ, часто являются компонентом нормальной микрофлоры влагалища, а диапазон определяемых микроорганизмов слишком широк. Поэтому, проведение культурального метода исследования, который широко распространен в практике врачей акушеров-гинекологов, для постановки диагноза БВ не имеет диагностического значения, и может быть использован в научных исследованиях или при подозрении на смешанную инфекцию. Как правило, в большинстве лабораторий определяют только аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы. Культивирование облигатных анаэробов и микроаэрофилов требует специального оборудования и выполняется не во всех лабораториях. Тем не менее необходимо отметить, что бактериологический метод имеет ряд важных преимуществ по сравнению с молекулярно-биологическими методами, так как выделение чистой культуры микроорганизмов необходимо для оценки чувствительности к антибиотикам, изучения факторов вирулентности и оценки метаболических функций микроорганизмов.

Метод газожидкостной хроматографии позволяет сравнить содержание в вагинальном отделяемом основных продуктов метаболизма лактобацилл и *Gardnerella vaginalis*: молочной кислоты (лактата) и янтарной кислоты (сукцината). При БВ концентрация янтарной кислоты во влагалищном содержимом увеличивается, а количество молочной кислоты, продуцируемой лактобациллами и стрептококками, снижается. Высокое содержание сукцината по сравнению с лактатом используется в качестве диагностического критерия БВ. При БВ также выявляют высокие концентрации летучих жирных кислот, продуцируемых строгими анаэробами — бутирата, ацетата и пропионата. На практике метод газожидкостной хроматографии используется редко из-за высокой степени сложности и дороговизны.

Предложен также ряд коммерческих экспресс-тестов: перчатки для измерения pH самой пациенткой; исследование на триметиламин («электронный нос»); исследование на триметиламин и измерение pH (FemExam); определение активности фермента сиалидазы, продуцируемой представителями группы бактерий, характерных для БВ, в вагинальных мазках (BVBlue); измерение пропин-аминопептидазной активности (Pip Activity TestCard). Однако широкого применения в практике эти методы не нашли.

Существующие методы диагностики БВ имеют некоторые недостатки: невозможность видовой идентификации микроорганизмов при микроскопическом анализе, длительность исследования при культуральной диагностике, трудности при культивировании строгих анаэробов и микроаэрофилов. Кроме того, как следует из вышесказанного, исследование, проводимое бактериологическим методом, дает неполное представление обо всем многообразии микрофлоры влагалища. Поэтому для быстрого и качественного анализа микробиоты урогенитального тракта могут быть использованы современные молекулярно-биологические методы, являющиеся точными и объективными для диагностики БВ.

В ряде недавних работ было показано, что дифференцированное выявление микроорганизмов, составляющих экосистему влагалища, имеет большое практическое значение. Полученные результаты нескольких независимых исследований свидетельствуют о том, что *Atopobium vaginae* наблюдается в высокой концентрации у пациенток с БВ и является важным компонентом бактериальной микрофлоры при дисбиозе влагалища [11, 14]. Особенностью этого микроорганизма является высокая устойчивость к метронидазолу — традиционному средству для лечения БВ и роль в развитии рецидивирующих форм БВ [7]. Следовательно, обнаружение *Atopobium vaginae* позволяет избежать неэффективного лечения и случаев рецидивирующего БВ, который диагностируют через 3 месяца после лечения у 30% женщин и у 50% — через полгода [12].

Лактобациллы также различаются по своим защитным свойствам. Так, *Lactobacillus crispatus* продуцируют больше перекиси водорода, чем другие виды лактобацилл, и поэтому считается, что они способствуют стабильности нормальной микрофлоры влагалища [20, 26].

Многообразие открытых и описанных микроорганизмов, ассоциированных с БВ, требует разработки и усовершенствования новых диагностических тестов. В связи с этим были проведены исследования, показавшие потенциальную ценность использования одного или нескольких БВ-ассоциированных микроорганизмов в качестве молекулярных маркеров этого состояния. В частности, в соответствии с выводами Menard J. P. (2008), обнаружение методом количественной ПЦР двух микроорганизмов — *Atopobium vaginae* и *Gardnerella vaginalis*, дает более высокие чувствительность (96%) и специфичность (99%) по сравнению с критериями Nugent [35]. В исследовании Charles P. Cartwright и соавт. (2012) участвовало 396 пациенток. В качестве «золотого» стандарта использовался метод Nugent, образ-

цы с промежуточным типом, но установленным диагнозом БВ на основании критериев Amsel, были рассмотрены как БВ-положительные. Образцы, имеющие промежуточный тип по шкале Nugent, но БВ-отрицательные по критериям Amsel, были рассмотрены как БВ-отрицательные. В этой работе описывается разработка и валидация метода полуколичественной мультиплексной ПЦР для диагностики БВ: показана целесообразность использования в качестве маркеров комбинации из трех микроорганизмов — *Atopobium vaginae/BVAB2/Megasphaera phylo-type 1*, чувствительность и специфичность 95,4% и 90,2% соответственно [16].

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени Real-time ПЦР позволяет не только выявить бактериальный состав микробиоценоза влагалища, но и определить количество микроорганизмов его составляющих. Также впервые появилась возможность расчета доли конкретного микроорганизма относительно суммы всех выделенных бактерий, что позволяет более точно определить этиологическую роль условно патогенного микроорганизма в возникновении патологии у конкретной пациентки. Таким образом, у врача-клинициста появился инструмент для проведения комплексной оценки вагинальной микрофлоры.

ПЦР в реальном времени отличается от традиционного бактериологического исследования тем, что не требует особых условий по транспортировке и хранению биоматериала, обладает высокой аналитической чувствительностью и специфичностью. К тому же это исследование проводится в течение рабочего дня, что дает возможность в максимально короткие сроки решить вопрос о начале проведения и объеме предполагаемой терапии.

Исследование микробиоценоза урогенитального тракта у женщин методом ПЦР в реальном времени позволяет определять общую микробную обсемененность влагалища, выявлять микроорганизмы и группы микроорганизмов, которые являются участниками вагинального микробиоценоза, выявлять трудно культивируемые облигатно-анаэробные микроорганизмы, сравнивать количество представителей различных групп условно патогенных микроорганизмов с представителями нормальной микрофлоры количеством общей бактериальной массы, оценивать качество взятия биологического материала, контролировать качество проведенного лабораторного исследования.

Данный анализ дает информацию врачу-клиницисту, необходимую для определения степени дисбиоза влагалища, определения объема

назначаемой терапии, проведения этиологически направленного лечения. Также, появляется возможность контролировать проведенную антибактериальную терапию и оценить восстановление нормальной вагинальной микрофлоры. Таким современным тестом сегодня является тест Фемофлор (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва), позволяющий определять как общую бактериальную массу, так и лактобациллы и другие факультативные и облигатные анаэробные бактерии. Кроме того, Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии (Москва) разработан тест для диагностики БВ методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс ФлороЦеноз/Бактериальный вагиноз-FL». Набор реагентов позволяет оценить соотношение общего количества бактерий, лактобактерий и условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированных с БВ (*Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*) во влагалищном биотопе; общее количество бактерий позволяет оценить адекватность полученного клинического материала.

Однако внедрение метода ПЦР в реальном времени, как любого нового метода, в работу практических лабораторий требует всестороннего анализа возможностей его применения. Необходим сравнительный анализ диагностической ценности этого метода с рутинными методами лабораторной диагностики. Без создания критериев нормы и патологии, невозможно использование нового метода в диагностике БВ.

Заключение

Микробиота влагалища — сложная и саморегулирующаяся система. Благодаря молекулярно-биологическим методам, и развитию диагностических технологий, установлено большое разнообразие видов бактерий, составляющих физиологический микробиоценоз влагалища — 1584 фило типа, при бактериальном вагинозе количество фило типов бактерий достигает 2455. Дальнейшее развитие молекулярно-биологических методов диагностики БВ позволит определить, существуют ли определенные комбинации микроорганизмов, являющихся более патогенными, чем другие.

Дифференцированное выявление микроорганизмов, составляющих экосистему влагалища, методом ПЦР, позволяет проводить динамическое наблюдение за составом вагинальной микрофлоры, контролировать эффективность проводимой терапии, усовершенствовать подход к диагностике БВ. Появилась возможность изучить зависимость вагинальной микрофлоры от изменений внешней среды, а также расчета доли конкрет-

ного микроорганизма, относительно суммы всех выделенных, что позволяет более точно определить этиологическую роль условно патогенных микроорганизмов.

Литература

1. *Куря Е. Ф.* Бактериальный вагиноз. — М.: МИА, 2012. — 472 с.
2. Лабораторная диагностика бактериального вагиноза: методические рекомендации / Савичева А. М. [и др.]. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2011. — 28 с.
3. *Литова Е. В.* Урогенитальный кандидоз женщин: проблемы и пути решения // Гинекология. — 2009. — Т. 10, № 5. — С. 35–38.
4. *Мальшева С. В.* Вагинальный кандидоз и бактериальный вагиноз в пубертатном периоде: клиника и лечение: автореф. дис... канд. мед. наук. — Иркутск, 2001.
5. *Савичева А. М., Соколовский Е. В., Домейка М.* Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта: методические рекомендации для лечащих врачей. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2007. — 72 с.
6. Adherent biofilms in bacterial vaginosis / Swidsinski A. [et al.] // *Obstet. Gynecol.* — 2005. — Vol. 106, N 5. — P. 1013–1023.
7. Antibiotic susceptibility of *Atopobium vaginae* / De Backer E. [et al.] // *BMC. Infect. Dis.* — 2006. — Vol. 6. — P. 51.
8. *Antonio M. A., Hawes S. E., Hillier S. L.* The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species // *J. Infect. Dis.* — 1999. — Vol. 180, N 6. — P. 1950–1956.
9. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis / Cherpes T. L. [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* — 2003. — Vol. 37. — P. 319–325.
10. Association between, bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group / Hillier S. L. [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1995. — Vol. 333, N 26. — P. 1737–1742.
11. Association of *Atopobium vaginae*, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis / Ferris M. J. [et al.] // *BMC Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 13, N 4. — P. 5.
12. Bacterial vaginosis: identifying research gaps proceedings of a workshop sponsored by DHHS/NIH/NIH/NIH / Marrazzo J. M. [et al.] // *Sex. Transm. Dis.* — 2010. — Vol. 37, N. 12. — P. 734.
13. Bacterial vaginosis is a strong predictor of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamidia trachomatis* infection / Wiesenfeld H. C. [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* — 2003. — Vol. 36. — P. 663–668.
14. 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. [et al.] // *BMC Microbiol.* 2004. — Vol. 4. — P. 16.
15. Comparative genomic analyses of 17 clinical isolates of *Gardnerella vaginalis* provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with subspeciation into genovars / Azad Ahmed [et al.] // *J. Bacteriol.* — 2012. — Vol. 194, N 15. — P. 3922–3937.

16. Development and validation of a semiquantitative, multitarget PCR assay for diagnosis of bacterial vaginosis / Charles P. Cartwright [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2012. — Vol. 50. — P. 2321–2329.
17. Drawing the line between commensal and pathogenic *Gardnerella vaginalis* through genome analysis and virulence studies / Harwich M.D.Jr. [et al.] // *BMS Genomics* — 2010. — Vol. 11, N 11. — P. 375.
18. Evidence relating bacterial vaginosis to intraamniotic infection / Silver H.M. [et al.] // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* — 1989. — Vol. 161, N 3. — P. 808–812.
19. Experience using bed side microscopy during gynecological examination at the gynecological clinic of the Vyborg maternity hospital, Leningrad Oblast / Antonenko M. [et al.] // *Journal of Obstetrics and Women Dis.* — 2007. — Vol. LVI, suppl. — P. 133–135.
20. Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of hydrogen peroxide production / Ana C. Valor [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 2001. — Vol. 184. — P. 1431–1436.
21. Female genital-tract HIV load correlates inversely with *Lactobacillus* species but positively with bacterial vaginosis and *Mycoplasma hominis* / Sha B.E. [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 2005. — Vol. 191, N 1. — P. 25–32.
22. Functional and phylogenetic characterization of vaginolysin, the human-specific cytotoxin from *Gardnerella vaginalis* / Gelber S.E. [et al.] // *J. Bacteriol.* — 2008. — Vol. 190, N 11. — P. 896–8903.
23. *Gardnerella* biofilm involves females and males and is transmitted sexually / Swidsinski A. [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* — 2010. — Vol. 70, N 4. — P. 256–263.
24. *Gibbs R.S.* Chorioamnionitis and bacterial vaginosis // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1993. — Vol. 169. — P. 460–462.
25. Gynecologic consequences of bacterial vaginosis / J.R. Schwebke [et al.] // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* — 2003. — Vol. 30. — P. 685–694.
26. Identification and characterization of vaginal lactobacilli from South African women / Pendharkar S. [et al.] // *BMC Infect. Dis.* — 2013. — Vol. 13. — P. 43.
27. Intravaginal practices, bacterial vaginosis and women's susceptibility to HIV infection: epidemiological evidence and biological mechanisms / Myer L. [et al.] // *Lancet. Infect. Dis.* — 2005. — Vol. 5. — P. 786–794.
28. Ison C.A., Hay P.E. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics // *Sex. Transm. Infect.* — 2002. — Vol. 78, N 6. — P. 413–415.
29. *Klebanoff S.J., Coombs R.W.* Virucidal effect of *Lactobacillus acidophilus* on human immunodeficiency virus type 1: possible role in heterosexual transmission // *J. Exp. Med.* — 1991. — Vol. 174. — P. 289–292.
30. *Marazzo J.M.* Interpreting the epidemiology and natural history of bacterial vaginosis: are we still confused? // *Anaerobe.* — 2011. — Vol. 17. — P. 186–190.
31. *Martius J., Eschenbah D.A.* The role of bacterial vaginosis as a cause of amniotic fluid infection, chorioamnionitis and pre-maturity — a review // *Arch. Gynecol. Obstet.* — 1990. — Vol. 247. — P. 1–13.
32. *Microbes and Health Sackler Colloquium: At the crossroads of vaginal and disease, the genome sequence of *Lactobacillus iners* AB-1 / Macklaim J.M. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA — 2011. — Vol. 108. — P. 4688–4695.*
33. Molecular analysis of the diversity of vaginal microbiota associated with bacterial vaginosis / Ling Z. [et al.] // *BMC Genomics.* — 2010. — Vol. 11. — P. 488.
34. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis / Fredricks D.N. [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 2005. — Vol. 353 — P. 1899–1911.
35. Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* loads to predict bacterial vaginosis / Menard J.P. [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* — 2008. — Vol. 47. — P. 33–43.
36. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations / Amsel R. [et al.] // *Am. J. Med.* — 1983. — Vol. 74, N 1. — P. 14–22.
37. *Nugent R.P., Krohn M.A., Hillier S.L.* Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation // *J. Clin. Microbiol.* — 1991. — Vol. 29, N 2. — P. 297–301.
38. Quantification of bacterial species of the vaginal microbiome in different groups of women, using nucleic acid amplification tests / Jespers V. [et al.] // *BMC Microbiol.* — 2012. — Vol. 12. — P. 83.
39. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis / Zozaya-Hinchliffe M. [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2010. — Vol. 48, N 5. — P. 1812–1819.
40. Rapid and inexpensive approaches to managing abnormal vaginal discharge or lower abdominal pain: an evaluation in women attending gynecology and family planning clinics in Peru / Sanchez S.E. [et al.] // *Sex. Transm. Infect.* — 1998. — Vol. 74, suppl. 1. — P. S85–94.
41. Reproductive tract infections in primary healthcare, family planning, and dermatovenereology clinics: evaluation of syndromic management in Morocco / Ryan C.A. [et al.] // *Sex. Transm. Infect.* — 1998. — Vol. 74, suppl. 1. — P. S95–105.
42. Role of bacterial vaginosis associated microorganisms in endometritis / Hillier S.L. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1996. — Vol. 175, N 2. — P. 435–441.
43. *Schmidt H., Hansen J.G.* Validity of wet-mount bacterial morphology identification of vaginal fluid by phase-contrast microscopy for diagnosis of bacterial vaginosis in family practice // *APMIS.* — 2001. — Vol. 109, N 9. — P. 589–594.
44. *Schwebke J.R., Weiss H.L.* Interrelationships of bacterial vaginosis and cervical inflammation // *Sex. Transm. Dis.* — 2002. — Vol. 29. — P. 59–64.
45. *Sobel J.D.* Bacterial vaginosis // *Annu. Rev. Med.* — 2000. — Vol. 51. — P. 349–56
46. *Spear G.T., E. St John, Zariffard M.R.* Bacterial vaginosis and human immunodeficiency virus infection // *AIDS Research and Therapy.* — 2007. — Vol. 4. — P. 25–30.
47. *Spiegel C.A., Amsel R., Holmes K.K.* Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid // *J. Clin. Microbiol.* — 1983. — Vol. 18, N 1. — P. 170–177.

48. Sweet R.L. Role of bacterial vaginosis in pelvic inflammatory disease // *Clin. Infect. Dis.* — 1995. — Vol. 20 — P. 271–275.
49. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques/Lamont R. [et al.] // *BJOG* — 2011. — Vol. 118. — P. 533–549.
50. The relationship of bacterial vaginosis, Candida and Trichomonas infection to symptomatic vaginitis in postmenopausal women attending a vaginitis clinic / Spinillo A. [et al.] // *Maturitas.* — 1997. — Vol. 27, N 3. — P. 253–260.
51. The relationship of hydrogen peroxidase-producing lactobacilli to bacterial vaginosis and genital microflora in pregnant women / S.L. Hillier [et al.] // *Obstet. Gynecol.* — 1992. — Vol. 79. — P. 369–373.
52. Vaginal Lactobacillus flora of healthy Swedish women / Vasquez A. [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2002. — Vol. 40, N 8. — P. 2746–2749.
53. Verstraelen H., Swidsinski A. The biofilm in bacterial vaginosis: implications for epidemiology, diagnosis and treatment // *Curr. Opin. Infect. Dis.* — 2013. — Vol. 26, N 1. — P. 86–89.
54. Wilson J. Managing recurrent bacterial vaginosis // *Sex. Transm. Infect.* — 2004. — Vol. 80. — P. 8–11.

Статья представлена А. М. Савичевой,
ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

VAGINAL MICROBIOTA AT PHYSIOLOGICAL MICROBIOCENOSIS AND WITH BACTERIAL VAGINOSIS

Nazarova V. V.

■ **Summary:** The article presents literature review on the problem of bacterial vaginosis, describes current methods used for bacterial vaginosis diagnosis. Especial attention is spared for peculiarities vaginal microbiota at physiological microbiocenosis and with bacterial vaginosis.

■ **Key words:** bacterial vaginosis; vaginal microbiota; anaerobic microflora, diagnosis.

■ Адреса автора для переписки

Назарова Вероника Викторовна — врач-бактериолог лаборатории микробиологии. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: savitcheva@mail.ru.

Nazarova Veronika Viktorovna — bacteriologist, laboratory of microbiology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia.
E-mail: savitcheva@mail.ru.